



UNIVERSIDADE DE ÉVORA

MESTRADO EM VITICULTURA E ENOLOGIA

**COMPOSTOS FENÓLICOS EM APARAS DE MADEIRA  
PARA USO ENOLÓGICO**

TESE DE MESTRADO REALIZADA POR:

MARGARIDA COSTA BARRANCOS VIEIRA

ORIENTADORA: Professora Doutora MARIA JOÃO CABRITA

CO-ORIENTADORA: Professora Doutora CRISTINA BARROCAS DIAS

ÉVORA, 2010



UNIVERSIDADE DE ÉVORA

MESTRADO EM VITICULTURA E ENOLOGIA

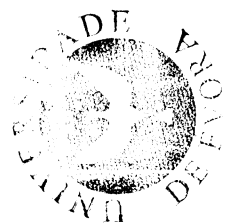
**COMPOSTOS FENÓLICOS EM APARAS DE MADEIRA  
PARA USO ENOLÓGICO**

TESE DE MESTRADO REALIZADA POR:

MARGARIDA COSTA BARRANCOS VIEIRA

ORIENTADORA: Professora Doutora MARIA JOÃO CABRITA

CO-ORIENTADORA: Professora Doutora CRISTINA BARROCAS DIAS



186194

ÉVORA, 2010



## AGRADECIMENTOS

À Professora Doutora Maria João Cabrita, orientadora deste trabalho, pelo seu apoio e disponibilidade, e à Doutora Raquel Garcia pelo apoio que me deu em toda a parte experimental, sem o qual este trabalho não se teria concretizado. A ambas agradeço os ensinamentos, a compreensão e o encorajamento.

Às pessoas que trabalham no Laboratório de Enologia, da adega experimental da Mitra, por me terem recebido com tanta simpatia e pelo apoio que me deram.

Agradeço às pessoas para quem trabalhei, Sr. Eng. Duarte Leal da Costa, e para quem trabalho, Sr. Dr. Henrique Granadeiro, pela compreensão e confiança que depositaram em mim, permitindo ter disponibilidade para estudar e terminar o Mestrado.

À minha Mãe e ao meu Pai, por sempre se interessarem e me encorajarem a seguir em frente com este projecto. Agradeço à minha Família o acompanhamento atencioso, à minha Avó Florinda pelo carinho, paciência e compreensão ao longo de todo o Mestrado.

À minha amiga Filipa, o seu apoio incondicional e as palavras de encorajamento foram fundamentais à conclusão do mestrado. À minha amiga Sofia, pela amizade e dedicação nos momentos decisivos da concretização desta tese. Ao Miguel por sempre me apoiar e encorajar a alcançar os objectivos a que me proponho, pelo carinho e atenção.

NOTA IMPORTANTE: É DA NOSSA RESPONSABILIDADE PRESERVAR O MEIO AMBIENTE, NOMEADAMENTE REDUZINDO O USO DOS RECURSOS NATURAIS, COMO AS ÁRVORES PARA A EXTRACÇÃO DE CELULOSE USADA NO FABRICO DE PAPEL. NESTE SENTIDO, ESTE TRABALHO É IMPRESSO EM PAPEL RECICLADO.



## RESUMO

O uso de aparas de madeira para fins enológicos é uma prática comum, apresentando-se como uma boa alternativa para o envelhecimento de vinhos, tanto pelo seu baixo custo, comparado com as barricas, como pela relativa rapidez de transferência de compostos para o vinho. A aplicação de aparas de madeira nos vinhos permite ultrapassar as propriedades físicas de algumas madeiras que não possibilitavam a construção de vasilhas estanques, e neste sentido, torna-se pertinente estudar a aplicabilidade de outras madeiras, para além do carvalho, na produção de vinhos de qualidade.

De entre os vários compostos extraíveis das madeiras, os compostos fenólicos de baixo peso molecular assumem particular importância por estarem associados a melhorias organolépticas nos vinhos, sabor e aroma, e por contribuírem também para a estabilização da cor dos vinhos tintos.

Este trabalho visa o estudo da composição fenólica de madeiras de castanheiro e carvalho (Nacional, Francês e Americano) sob a forma de aparas para fins enológicos. Assim, os objectivos do presente trabalho podem ser sumariados em:

- 1 – avaliar o efeito da tosta no teor em compostos fenólicos de baixo peso molecular;
- 2 – avaliar o efeito da espécie botânica no teor em compostos fenólicos de baixo peso molecular.

Os resultados obtidos permitem-nos afirmar que há diferenças na composição fenólica das diferentes espécies botânicas em estudo e que de um modo geral o teor em compostos fenólicos é afectado positivamente pela intensidade da tosta.

O trabalho será apresentado no 8º Simpósio de Vitivinicultura do Alentejo, que decorrerá nos dias 5, 6 e 7 de Maio de 2010

**PALAVRAS-CHAVE:** Compostos fenólicos, aparas de madeira, carvalho, castanheiro, PLE (pressurized liquid extraction), HPLC-DAD

## PHENOLIC COMPOUNDS FROM WOOD CHIPS TO ENOLOGICAL USE

### ABSTRACT

The use of wood chips for oenological purposes is a common practice, presenting itself as a good alternative to wine aging, because it has a low cost, compared to the barrels, and allow a relatively quickly transfer of compounds into the wine. The application of wood chips in wine will overcome the physical properties of some woods that did not serve for the manufacture of barrels, so it becomes pertinent to study the applicability of other woods, beyond the oak, in the production of quality wines.

Among phenolic compounds from wood, low molecular weight phenolic compounds are very important for being associated with organoleptic improvement in wine, aroma and taste, and for their contribution to color stabilization

The aim of this work was to study phenolic composition of chestnut and oak (Portuguese, American and French) wood chips.

The objectives were:

- 1 – evaluate the effect of toasting level on low molecular weight phenolic compounds content;
- 2- evaluate the effect of botanical species on low molecular weight phenolic compounds content.

Results show that there are differences in phenolic composition of wood from different botanical species, and in general, the phenolic compounds content is affected by toasting level.

**KEY-WORDS:** Phenolic compounds, wood chips, Oak, Chestnut, PLE (pressurized liquid extraction), HPLC-DAD

## ÍNDICE

ÍNDICE DE TABELAS .....	6
ÍNDICE DE FIGURAS .....	7
INTRODUÇÃO.....	9
1.1. A MADEIRA EM ENOLOGIA .....	9
1.1.1. ESPÉCIES BOTÂNICAS E DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA.....	11
1.1.2. CARACTERÍSTICAS ANATÓMICAS E ESTRUTURAIS .....	12
1.1.3. COMPOSIÇÃO QUÍMICA DA MADEIRA DE CARVALHO .....	14
1.1.4. O USO DO CARVALHO ( <i>Quercus sp.</i> ) .....	16
1.1.4.1. CARVALHO AMERICANO.....	16
1.1.4.2. CARVALHO EUROPEU.....	17
1.1.4.3. CARVALHO NACIONAL.....	18
1.1.5. CASTANHEIRO NACIONAL.....	18
1.1.6. TRATAMENTOS DA MADEIRA.....	19
1.1.6.1. SECAGEM DA MADEIRA .....	19
1.1.6.2. TRATAMENTO TÉRMICO .....	20
1.1.7. AS APARAS.....	21
1.2. OS COMPOSTOS FENÓLICOS .....	23
2. OBJECTIVOS .....	27
3. MATERIAL E MÉTODOS .....	29
3.1. AMOSTRAS: APARAS DE MADEIRA .....	29
3.2. REAGENTES, PADRÕES E CONSUMÍVEIS .....	29
3.3. MÉTODO DE PREPARAÇÃO DAS AMOSTRAS .....	30
3.4. MÉTODO DE EXTRACÇÃO DOS COMPOSTOS FENÓLICOS .....	30
3.5. MÉTODO CROMATOGRAFICO.....	31
3.6. PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL .....	33
3.6.1. SOLUÇÕES PADRÃO.....	33
3.6.2. IDENTIFICAÇÃO DO PICOS .....	34
3.6.3. CONSTRUÇÃO DAS CURVAS DE CALIBRAÇÃO.....	34
3.7. ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	35
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	36
4.1. ESTUDO DA COMPOSIÇÃO FENÓLICA DE APARAS DE CARVALHO FRANCÊS SUJEITAS A DIFERENTES NÍVEIS DE TOSTA .....	36
4.2. . ESTUDO DA COMPOSIÇÃO FENÓLICA DE APARAS COM TOSTA MÉDIA DE DIFERENTES ESPÉCIES BOTÂNICAS.....	44
5. CONCLUSÃO.....	49
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	51
7. ANEXOS .....	58

## ÍNDICE DE TABELAS

Tabela nº 1: Características químicas dos compostos em estudo. ....	27
Tabela nº 2: Características das aparas de madeira em estudo .....	29
Tabela nº 3: Gradiente de eluição .....	32
Tabela nº 4: Concentração e tempos de retenção dos compostos fenólicos.....	33
Tabela nº 5: Parâmetros de calibração dos compostos em estudo .....	34
Tabela nº 6: Concentração (mg/100g de apara) dos compostos fenólicos em aparas de carvalho Francês nº3 nas diferentes tostas em estudo. ....	51
Tabela nº 7: Concentração (mg/100g de apara) dos compostos fenólicos em pó de carvalho Francês nº3 nas diferentes tostas em estudo.....	58
Tabela nº 8: Concentração (mg/100g de apara) dos compostos fenólicos em aparas, com tosta média, de carvalho Francês, carvalho Americano, carvalho Nacional do Gerês e castanheiro Nacional. ....	58

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura nº 1- Cromatograma de HPLC correspondente à extracção dos compostos fenólicos de aparas de carvalho francês por PLE (Condições: T=150°C; Solvente: metanol; 3 ciclos de extracção). As condições cromatográficas encontram-se descritas na secção 3.5.. Os compostos assinalados foram identificados por comparação do tempo de retenção com os dos compostos padrão.....	31
Figura nº 2: Concentração (mg/100g de apara) em ácido gálico, ácido vanílico, ácido siríngico e ácido ferúlico em aparas de carvalho Francês nº3 nas diferentes tostas em estudo. ....	36
Figura nº 3: Concentração (mg/100g de apara) de ácido elágico em aparas de carvalho Francês nas diferentes tostas em estudo. ....	38
Figura nº 4: Concentração (mg/100g de apara) em 5-hidroximetilfurfural, furfural e 5-metilfurfural em aparas de carvalho Francês nas diferentes tostas em estudo.....	39
Figura nº 5: Concentração (mg/100g de apara) em vanilína, seringaldeído, coniferaldeído e sinapaldeído em aparas de carvalho Francês nas diferentes tostas em estudo.....	39
Figura nº 6: Concentração total (mg/100g de apara) dos compostos fenólicos nas aparas de carvalho Francês, nas diferentes tostas em estudo. ....	40
Figura nº 7: Concentração (mg/100g de pó) em ácido gálico, ácido vanílico, ácido siríngico e ácido ferúlico em pó de carvalho Francês nas diferentes tostas em estudo.....	41
Figura nº 8: Concentração (mg/100g de apara) em ácido elágico em pó de carvalho Francês nas diferentes tostas em estudo.....	42
Figura nº 9: Concentração (mg/100g de apara) em 5-hidroximetilfurfural, furfural e 5-metilfurfural no pó de carvalho Francês nas diferentes tostas em estudo.....	42
Figura nº 10: Concentração total (mg/100g de apara) dos compostos fenólicos no pó de carvalho Francês, nas diferentes tostas em estudo.....	43
Figura nº 11: Concentração (mg/100g de apara) em ácido vanílico, ácido siríngico e ácido ferúlico nas diferentes espécies botânicas em estudo.....	44
Figura nº 12: Concentração (mg/100g de apara) em ácido gálico e ácido elágico nas diferentes espécies botânicas em estudo.....	44

Figura nº 13: Concentração (mg/100g de apara) em 5-hidroximetilfurfural, furfural e 5-metilfurfural nas diferentes espécies botânicas em estudo.....46

Figura nº 14: Concentração (mg/100g de apara) em vanilina, seringaldeído, coniferaldeído e sinapaldeído nas diferentes espécies botânicas em estudo. ....47

## INTRODUÇÃO

### 1.1. A MADEIRA EM ENOLOGIA

As vasilhas de madeira são usadas para o transporte e conservação de vinhos há, pelo menos, dois mil anos. Pensa-se que as técnicas de tanoaria foram introduzidas na Península Ibérica pelos Celtas no século VI a.C.. Existem referências ao transporte de vinho em vasilhas de madeira no ano 41 a.C., altura em que se julga ter havido um considerável desenvolvimento da tanoaria, que adquiriu um carácter semi-industrial, mas sem perda da sua vocação artesanal, aspecto que permaneceu ao longo do tempo (Canas & Caldeira, 2004).

No domínio da vitivinicultura, cedo se reconheceu a influência da madeira na qualidade dos vinhos (Ribéreau-Gayon, 1931; Singleton, 1974; Marché *et al.*, 1975; Ribéreau-Gayon *et al.*, 1976; Monties, 1987; Dubois, 1989; Moutounet *et al.*, 1999). Este aspecto terá sido decisivo para a reconquista da importância e para a evolução da actividade da tanoaria, no sentido da especialização como indústria subsidiária da actividade vitivinícola, no fabrico de vasilhas destinadas inicialmente ao transporte, e mais tarde à conservação e envelhecimento de vinhos (Canas & Caldeira, 2004).

A constatação de que algumas madeiras não apresentam as características mais adequadas para o fim em vista, conduziu ao seu progressivo abandono. Por exemplo, a transferência de aromas e sabores estranhos aos vinhos pelas madeiras de Pinheiro bravo e de Eucalipto, e a elevada porosidade da madeira de Acácia são apontadas como as principais razões para a cessação da sua utilização (Nobre da Veiga, 1954).

Por outro lado, razões de ordem económica e a “moda” também contribuíram para a alteração das espécies florestais usadas em tanoaria, provocando a exclusão quase completa do castanheiro e o destaque da madeira de carvalho (Canas & Caldeira, 2004). Taransaud (1976) referia que a madeira de carvalho era a única apropriada para a vinificação e conservação de vinhos considerados finos. Actualmente, muitos autores ainda consideram que apenas a madeira de carvalho apresenta aptidões para a obtenção de vinhos e aguardentes de qualidade (Monties, 1987; Puech & Sami, 1990; Viriot *et al.*, 1993; Singleton, 1995; Cutzack *et al.*, 1997; Haluk e Irmouli, 1998). Alguns mencionaram inclusivamente que as madeiras de *Q. robur* e de *Q. sessiliflora* são particularmente aptas ou preferidas para este fim (Taransaud, 1976; Keller, 1987; Singleton, 1995; Vivas, 1995; Haluk e Irmouli, 1998; Moutounet *et al.*, 1999). Tal

primazia é justificada pelas propriedades mecânicas e pelas características anatómicas e químicas que apresentam.

Nos últimos anos tem-se assistido a um aumento da procura de carvalho Americano, tanto nos países tradicionalmente produtores de vinho, como nos novos países vitivinícolas (Austrália, Chile, Argentina, etc.), motivado pelo menor preço e pela mais rápida disponibilização (Schahinger, 1992; Mosedale, 1995), assim como pelo reconhecimento das suas aptidões.

A utilização de madeiras de carvalho provenientes do leste da Europa (Roménia, Bulgária, Rússia) tem sido também alvo de uma expansão assinalável, sobretudo em França (Chatonnet, 1995), em virtude do seu preço mais baixo e maior disponibilidade de oferta.

As madeiras de carvalho de origem Francesa e Americana foram, nas últimas décadas, objecto de aprofundado estudo, na perspectiva da sua utilização em tanoaria, o que levou ao reconhecimento das suas potencialidades para o envelhecimento de vinhos e aguardentes. Já em relação às espécies de castanheiro e de carvalho cultivadas em Portugal, assistiu-se até 1996, a um quase total desconhecimento das suas características químicas e das suas potencialidades para o envelhecimento quer de vinhos, quer de aguardentes (Belchior, 1995).

Com efeito, no caso da madeira de castanheiro, a pesquisa tem incidido sobretudo nos taninos hidrolisáveis, especialmente pela sua utilização nas indústrias farmacêutica e alimentar e nas de curtumes e tintas (Salagoity-Auguste *et al.*, 1986; Scalbert *et al.*, 1988; Peng, *et al.*, 1991; Krisper *et al.*, 1992; Vivas *et al.*, 1993; Viriot *et al.*, 1994; Berrocal del Brio *et al.*, 1998). No domínio da enologia era apenas conhecido um estudo sobre o uso de castanheiro nas características aromáticas de vinhos (Clímaco *et al.*, 1985).

A conservação e o envelhecimento dos vinhos em contacto com madeira de carvalho traduz-se, entre outros aspectos, numa transferência de compostos da madeira para o vinho, assumindo tal facto uma importância fulcral na composição físico - química e nas características sensoriais destes (Díaz - Plaza *et al.* 2002). A madeira de carvalho Americano ou Francês têm sido usadas tradicionalmente para este propósito devido às suas propriedades mecânicas e aos seus compostos extraíveis (Pérez-Coello *et al.*, 1999). O envelhecimento em madeira de carvalho permite ao vinho extrair uma série de compostos fenólicos, tais como vanilina, ácido vanílico, seringaldeído, ácido sirínico, coniferaldeído, sinapaldeído, ácido gálico, ácido elágico e cumarinas. Este fenómeno



implica modificações dos parâmetros físicos e químicos do vinho (Monedero *et al.*, 2000).

No presente, por razões de custo efectivo, as alternativas às barricas de carvalho têm sido procuradas para serem usadas no processo de envelhecimento de vinhos. Consequentemente, nos últimos anos, tem-se tentado que essas alternativas consigam criar condições similares às fornecidas pelas barricas de carvalho. Estas tecnologias consistem na adição de aparas ou aduelas de madeira ao vinho, com o objectivo de lhe dar o aroma e o sabor a madeira. Durante este processo o vinho também pode ser micro - oxigenado, para reflectir a lenta oxigenação que ocorre quando o vinho envelhece em barricas (Garde-Cerdán & Ancín-Azpilicueta, 2006).

O contacto madeira - vinho, quer em barricas quer em outros sistemas com carvalho, é o maior passo dado na vida de um vinho, visto que intensifica os sabores nas características organolépticas. Este processo deve ser levado a cabo cuidadosamente de modo a obter vinhos elegantes e bem equilibrados (Chatonnet, 1995; Valls, 2000).

#### 1.1.1. ESPÉCIES BOTÂNICAS E DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA

As árvores produtoras de madeira com interesse para a tanoaria pertencem à Divisão *Angiospermae*, Classe *Dicotyledones*, Ordem *Fagales* e Família *Fagaceae* (Franco, 1971), sendo vulgarmente designadas por folhosas.

O castanheiro pertence ao Género *Castanea* (Franco, 1971) e à Espécie *Castanea sativa* Mill., que se desenvolve nas regiões temperadas do hemisfério norte e que é a única na Europa (Berrocal del Brio *et al.*, 1998).

Os carvalhos enquadram-se no Género *Quercus* L., cujas espécies se encontram sobretudo no hemisfério norte (Tutin *et al.*, 1964, 1993), com particular incidência nos territórios da América do Norte e da Europa. São ainda conhecidas um número razoável de espécies euro-asiáticas, algumas mediterrânicas e algumas na América Central e na América do Sul (Keller, 1987).

Segundo Franco (1971), as espécies de carvalho distribuem-se por quatro subgéneros – *Sclerophyllodrys*, *Cerris*, *Quercus*, e *Erytrobalamus* – embora as espécies utilizadas em tanoaria pertençam apenas ao subgénero *Quercus*: *Q. robur* L., *Q. pyrenaica* Willd., *Q. faginea* Lam., *Q. sessiliflora* Salisb., *Q. bicolor* Willd., *Q. stellata* Wangenh., *Q. lyrata* Walt., e *Q. alba* L..

Na Europa, as espécies *Q. sessiliflora* e, sobretudo, *Q. robur*, ocupam a maior área e constituem a mais importante fonte de madeira para tanoaria (Kleinschmit, 1993; Mosedale *et al.*, 1999). As principais florestas encontram-se em França, o que não só se deve às condições naturais existentes, mas também ao controlo estatal, baseado em legislação que protege e revitaliza essa riqueza de cerca de dezasseis milhões de hectares de floresta (Kleinschmit, 1993).

Na “Flora de Portugal” (Coutinho, 1913) consta a espécie *Q. sessiliflora* Salisb., mas actualmente existem naturalmente apenas quatro espécies de carvalho com interesse para tanoaria, que obedecem à seguinte distribuição (Carvalho, 1997; Paiva, 2001): a Noroeste predomina o carvalho roble ou alvarinho (*Q. robur* L.) de folhagem caduca; a Nordeste, em zonas mais continentais, domina o carvalho negral ou pardo (*Q. pyrenaica* Willd.) de folhagem caduca; no Centro – Beira e Trás-os-Montes – predomina o pedamarro (*Q. faginea* Lam. subsp. *faginea*) espécie endémica da Península Ibérica, de folhagem marcescente; da Beira Litoral ao Algarve sobressai o carvalho cerquinho ou Português (*Q. faginea* Lam. subsp. *Broteroi* (Cout.) Samp.) de folhagem marcescente. Existem ainda algumas espécies exóticas, a mais comum das quais, nos repovoamentos silvícolas, é o carvalho Americano – *Q. alba* L. (Paiva, 2001).

#### 1.1.2. CARACTERÍSTICAS ANATÓMICAS E ESTRUTURAIS

No plano transversal do tronco de uma espécie folhosa, revela-se sucessivamente da periferia para o centro (Vivas, 1995; Carvalho, 1996): casca ou suber – constitui a casca morta ou ritidoma; câmbio suberoso ou felogene – meristema secundário que assegura o engrossamento do tronco, produzindo as células dos tecidos protectores, isto é, feloderme para o interior e suber para o exterior. O crescimento do carvalho é promovido essencialmente na direcção centrípta: feloderme, liber ou floema – assegura a circulação da seiva elaborada; câmbio libero-lenhoso ou câmbio vascular – meristema secundário que garante o engrossamento do tronco, diferenciando xilema para o interior e floema para o exterior; lenho ou xilema – tecido secundário constitutivo fundamental das árvores, formado por células arquitectonicamente organizadas e harmonizadas, de modo a desempenharem as funções vitais de transporte, de suporte e de armazenamento ou reserva; medula – localizada no centro, com 1-2 mm e formada por tecido parenquimatoso primário, ou seja, por células parenquimatosas remanescentes da estrutura primária da planta.

A principal diferença anatómica - estrutural entre madeiras de carvalho e de castanheiro reside no tipo de raios lenhosos, que são apenas unisseriados no castanheiro, enquanto nos carvalhos coexistem raios plurisseriados e unisseriados (Carvalho, 1998).

O lenho é composto por anéis de crescimento, resultantes da actividade sazonal do câmbio, e cujo número é indicador da idade da madeira. Sendo as espécies usadas em tanoaria cultivadas em zonas temperadas, em cada anel de crescimento é possível distinguir duas camadas, uma correspondente à formação de Primavera (lenho de início de estação) e outra à de final de Verão ou Outono (lenho de fim de estação). Quando a distinção entre elas é nítida, sobretudo pela dimensão dos vasos respectivos, diz-se que a madeira possui “porosidade em anel” – caso do carvalho e do castanheiro usados em tanoaria (Fengel e Wegner, 1989; Carvalho, 1996).

Nas árvores adultas, a zona mais periférica do lenho é constituída por cerca de dez a vinte anéis de crescimento, fisiologicamente activos, conduzindo a seiva bruta ascendente, e é designada por borne ou alburno. A partir de certa idade, variável com a espécie e com as condições ecológicas, começa a ser possível distinguir o **cerne**, durame ou coração, localizado mais interiormente, e que corresponde ao cilindro de lenho fisiologicamente inactivo. A formação do **cerne** resulta do fenómeno de duramização.

A duramização traduz-se num conjunto de lentas e progressivas modificações anatómicas, físicas e químicas ocorridas nas camadas mais antigas, as mais interiores, do borne (Keller, 1987). Os aspectos mais evidentes da duramização são: a obstrução dos grandes vasos e/ou dos capilares das paredes celulares e dos lúmens das células, por tilos, que são proliferações membranosas das células parenquimatosas vizinhas (Keller, 1987; Carvalho, 1997); a deposição ou impregnação das membranas das pontuações e das paredes celulares por quantidades apreciáveis de metabolitos secundários, extraíveis (Moutounet *et al.*, 1999; Keller, 1987; Monties, 1987; Scalbert *et al.*, 1986); a redução do teor de água da madeira (Hills, 1984); a aquisição de uma coloração mais intensa e mais escura (que pode ser rosa, amarelo claro, amarelo acastanhado e castanheiro) em consequência das modificações químicas ocorridas (Keller, 1987).

Do ponto de vista tecnológico, as alterações associadas à duramização são de importância essencial, uma vez que se encontram na origem das propriedades físicas e mecânicas e de características químicas directamente implicadas na aptidão da madeira para a tanoaria (Keller, 1987; Feuillat e Keller, 1997): fácil fendimento, boa flexibilidade, bom isolamento térmico, suficiente dureza e durabilidade, porosidade

ligeira e composição química adequada. O **cerne** é, pois, por excelência, a madeira para a tanoaria.

Num estudo realizado por Chatonnet e Dubourdieu (1998), estes autores observaram que no cerne de árvores adultas de carvalho Americano (*Q. alba*) a largura dos anéis de crescimento são semelhantes aos do carvalho Europeu (*Q. petraea* ou *sessile*), de 3 a 5 mm. Os vasos do crescimento de Primavera foram bloqueados pelos tilos em ambos os casos, em graus semelhantes. No entanto, a estrutura dos tilos aparece bem diferente de uma espécie para outra, os tilos no *Q. sessile* são finos (0,1-0,5µm), irregulares e facilmente torcidos, enquanto que no *Q. alba* os tilos são bem estruturados, mais espessos (1-2 µm) e fortes. Este ponto específico representa uma das maiores diferenças entre os carvalhos destas duas origens geográficas.

### 1.1.3. COMPOSIÇÃO QUÍMICA DA MADEIRA DE CARVALHO

Para melhor compreender a origem das substâncias que a madeira confere ao vinho, é necessário conhecer previamente a composição química da madeira de carvalho. Basicamente a madeira de carvalho é constituída por 40% de celulose, 25% de lenhina, 20% de hemicelulose, 10% de taninos elágicos e 5% de outros compostos (Chatonnet, 1992).

A- CELULOSE: do ponto de vista quantitativo, é o componente mais importante da madeira, representando cerca de 40% da matéria seca. Pode ser caracterizada, simplificada, como um polímero linear homogéneo (homopolissacárido) de elevada massa molecular, por ser constituído exclusivamente por unidades de β-D-glucopirranose com ligações 1 → 4, cuja base é a celobiose. As cadeias de celulose organizam-se em estruturas tridimensionais designadas por microfibrilas, que possuem zonas cristalinas ou micelas e zonas de estrutura amorfa (Melo, 1999). As propriedades das fibras da madeira dependem estritamente do arranjo das microfibrilas de celulose, dentro das diferentes camadas da parede celular (Haluk e Irmouli, 1998). Trata-se do único componente da madeira que é totalmente insolúvel, excepto quando existe associação com temperatura ou reagentes fortes (Masson *et al.*, 1996).

B- LENHINA: constitui cerca de 25% da matéria seca, sendo formada por polímeros tridimensionais de natureza fenólica, com unidades siringilpropano (60%, em média)

e guaiacilpropano (40%, em média), com sete diferentes tipos de ligações, das quais as mais abundantes são do tipo alquilo-arilo-éter ( $\beta$ -O-4) (Haluk e Imouli, 1998). Do ponto de vista morfológico, trata-se de uma substância amorfa, isotrópica e termoplástica, que interpenetra as fibrilas de celulose. Trabalhos realizados nas últimas décadas (Puech, 1981; Monties, 1992; Vivas *et al.*, 1998; Haluk e Imouli, 1998; Vivas *et al.*, 1999), apontam para a existência de diversos tipos de lenhina na madeira de carvalho, em função da solubilidade específica: lenhinas extraíveis e lenhina insolúvel ou lenhina de Klason.

- C- HEMICELULOSE: representa 20 a 30% da matéria seca e é um heteropolissacárido constituído por açúcares neutros – D-glucose, D-manose, e D-galactose (hexoses); D-xilose e D-arabinose (pentoses) – e por ácidos urónicos – ácido D-glucurónico, ácido D-galacturónico e ácido 4-O-metilglucurónico (Masson *et al.*, 1996; Haluk e Imouli, 1998). As hemiceluloses possuem natureza amorfa, sendo facilmente hidrolisadas pelos ácidos, nos seus constituintes monoméricos (Haluk e Imouli, 1998; Melo, 1999).
- D- COMPOSTOS EXTRAÍVEIS: mesmo com uma modesta contribuição para a matéria seca da madeira, cerca de 10%, os compostos extraíveis têm grande influência nas propriedades e qualidades tecnológicas da madeira. Podem ser derivados de biopolímeros de massa molecular alta ou ser depositados pela seiva, sem participar na estrutura da parede celular. O vasto grupo de compostos orgânicos da madeira, comuns a todos os vegetais, integra ácidos gordos, álcoois, glúcidos, compostos terpénicos, norisoprenóides, carotenóides, esteróides e lactonas. A madeira possui ainda, à semelhança dos tecidos de algumas plantas, uma vasta e importante família de compostos – os compostos fenólicos (Masson *et al.*, 1996).
- E- TANINOS ELÁGICOS: Os taninos do cerne do carvalho pertencem ao grupo dos taninos hidrolisáveis, que compreendem os galotaninos e os elagitaninos, dando origem respectivamente a ácido gálico e ácido elágico após a hidrólise ácida. Nos carvalhos europeus predominam os elagitaninos, e o carvalho americano apresenta maioritariamente galotaninos.

#### 1.1.4. O USO DO CARVALHO (*Quercus sp.*)

No estudo da técnica de tanoaria, a primeira questão que se apresenta é a de saber por que é que o carvalho se impôs como a principal espécie utilizada no fabrico de barricas. As razões que conduzem a essa escolha provêm de uma constatação ao longo do tempo: esta madeira tem a capacidade de modificar, favoravelmente, as características organolépticas de vinho e aguardentes que com ela contactem.

Quando se examinam as propriedades mecânicas da madeira, a porosidade, a permeabilidade, a resistência, entre outras, e mesmo a sua composição química, pode-se verificar uma série de características peculiares que, em conjunto, compõem a espécie ideal para a etapa de maturação de bebidas alcoólicas:

- ∴ excelente porosidade a gases, associada à impermeabilidade a fluidos líquidos;
- ∴ possibilidade de formar uma grande variedade de moléculas odorantes durante o seu tratamento térmico (tosta), as quais podem enriquecer as bebidas.
- ∴ presença de moléculas com carácter adstringente e amargo, as quais podem ser reduzidas pela secagem (natural ou não) a que a madeira está sujeita.
- ∴ isolante térmico.
- ∴ elevada resistência a microorganismos.
- ∴ madeira dura e de difícil apodrecimento, o seu teor em lenhina e taninos pode explicar esta característica.
- ∴ relativa leveza, que permite o fabrico de recipientes de maior capacidade.
- ∴ presença de compostos aromáticos que podem elevar as qualidades gustativas e olfactivas das bebidas.
- ∴ propriedades físicas, mecânicas e anatómicas tais como: a dureza, flexibilidade, resistência, disposição dos vasos, entre outras, que permitem dar forma aos recipientes.

Estas e outras características fazem da *Quercus sp.* a melhor madeira para uso em tanoaria (Taransaud, 1976; Pontalier *et al.*, 1982; Puech, 1984; Vivas, 1998; Maga, 1989).

##### 1.1.4.1. CARVALHO AMERICANO

A madeira de carvalho Americano é utilizada há muito tempo no processo de envelhecimento de *bourbons* e de uma série de vinhos Americanos (Reazin, 1983). Hoje

em dia, é crescente o uso de carvalho originário da América do Norte, não só pelas suas características mas também pelo seu preço mais económico.

A denominação de carvalho branco Americano engloba várias espécies, erroneamente chamadas *Quercus alba* (Polge & Keller, 1973). A denominação de carvalho branco é, de facto, o nome genérico para os carvalhos Norte Americanos de folha caduca, relativo a várias espécies, incluindo *Quercus alba*, *Quercus stellata*, *Quercus macrocarpa*, *Quercus prinus*, *Quercus muehlenbergii*, *Quercus lyrata* e *Quercus garryana* (Chatonnet & Durbourdieu, 1998).

O carvalho Americano possui uma estrutura comparável à do *Q. robur* e *Q. petraea* (carvalho Europeu), mas com algumas características particulares como os seus tilos, por exemplo, mais espaçados (no *Quercus alba* o espaçamento varia entre 2 a 4 mm). Essa espécie é conhecida por apresentar no seu extracto seco teores de elagitaninos e fenóis totais menores que nos carvalhos Europeus, e um teor de whiskey-lactonas bem superior (Vivas, 1998).

Ao contrário do carvalho Europeu, o qual deve ser sempre fendilhado ao longo dos veios para garantir que as barricas sejam perfeitamente impermeáveis, o carvalho branco Americano pode ser simplesmente serrado sem nenhum problema de estanquicidade. Enquanto por fendilhamento é impossível obter mais do que 25% de aduelas para barricas, a partir de uma unidade, a serração pode dar mais de 50%. Por este motivo, é mais barato produzir barricas de carvalho Americano (Chatonnet & Dubourdieu, 1998).

#### 1.1.4.2. CARVALHO EUROPEU

Dos vários tipos de carvalho Europeu, os carvalhos *pedunculé* (*Q. robur* L. ou *pedunculata*) e carvalhos *sessile* (*Q. petraea* Liebl.) são as duas principais espécies destinadas ao fabrico de barricas para envelhecimento de vinho e bebidas alcoólicas. Geralmente são de fácil distinção devido a numerosos critérios fenotípicos (Chatonnet, 1995; Chatonnet & Dubourdieu, 1998). Em França estas duas espécies de carvalho crescem juntas. A madeira de carvalho Europeu possui várias características físicas e químicas passíveis de afectar a qualidade do vinho, de acordo com a sua origem geográfica (Chatonnet & Dubourdieu, 1998).

#### 1.1.4.3. CARVALHO NACIONAL

Em Portugal, o carvalho representa cerca de 4% do total da área florestal nacional (DGF, 2001), encontrando-se os povoamentos praticamente limitados a algumas zonas da Beira Interior, de Trás-os-Montes e ainda do Gerês. Em termos das espécies existentes em Portugal, com interesse para a tanoaria, podemos encontrar quatro espécies (Paiva, 2001): *Quercus robur* L. (carvalho roble ou alvarinho), *Quercus pyrenaica* Willd. (carvalho negral ou pardo), *Quercus faginea* Lam. subespécie *faginea* (carvalho pedamarro) e *Quercus faginea* Lam. subespécie *broteroi* (carvalho cerquinho). Porém, dentro destas espécies existentes na floresta Portuguesa, só o *Q. pyrenaica* Willd é geralmente utilizado (embora em pequena escala), na indústria de tanoaria em Portugal.

#### 1.1.5. CASTANHEIRO NACIONAL

O castanheiro é uma angiospérmica dicotiledónea, da família das Fagáceas (família a que pertencem os carvalhos). Das várias espécies do género *Castanea*, a que ocorre no nosso país é a *C. sativa* Miller, o comum castanheiro. Podem ser encontradas outras espécies como ornamentais, sem utilização produtiva. Na Europa, este castanheiro ocorre principalmente a Sul (Portugal, Espanha, França, Itália e Grécia), podendo também ser encontrado mais a Norte (Reino Unido e Alemanha). Em Portugal a área florestal total de castanheiro é aproximadamente 35 mil hectares. Ao nível de povoamento, pode-se destacar a região do nordeste transmontano, onde existem cerca de 12.500 ha, e a serra de S. Mamede, antes dos fogos de 2003, considerada um verdadeiro "santuário do castanheiro".

A madeira de castanheiro apresenta uma estrutura porosa, cujos poros possuem menor resistência à difusão de líquidos e gases através da madeira (Feuillat e Keller, 1997; Carvalho, 1998), em comparação ao carvalho, influenciando positivamente o seu comportamento durante o processo de fabrico das barricas (Canas, 2003) e o aumento da permeabilidade da madeira e, portanto, o acesso do líquido aos compostos extraíveis. Além disso, a madeira de castanheiro apresenta uma quantidade superior de biopolímeros, nomeadamente a celulose (Fengel e Wegner, 1989), maiores teores totais de compostos fenólicos de baixo peso molecular (Canas *et al.*, 2000b) e de taninos hidrolisáveis (Salagoity-Auguste *et al.*, 1992; Viriot *et al.*, 1994).



#### 1.1.6. TRATAMENTOS DA MADEIRA

Alguns tratamentos a que a madeira é sujeita durante o processo de tanoaria têm grande influência nas propriedades da mesma e na sua composição química. De entre esses tratamentos destacam-se a secagem e a tosta.

##### 1.1.6.1. SECAGEM DA MADEIRA

A secagem consiste na etapa da desidratação da madeira que dura até o seu teor em água se equilibrar com a humidade ambiente. Sem esta operação no processo de fabrico, as barricas não possuiriam a capacidade de estancar os líquidos que nelas serão armazenados.

Podem-se distinguir dois tipos de secagem: a secagem artificial, realizada em estufas com ambiente controlado, onde somente se faz a desidratação de aduelas; e a secagem natural, ao ar livre. Em tanoaria o processo de secagem em estufas (artificial) apresenta alguns inconvenientes, transmite às bebidas caracteres gustativos e odorantes desagradáveis e, geralmente, serve apenas como uma padronização da humidade, após a secagem no campo (Chatonnet, 1995).

A secagem ao ar livre é mais longa; geralmente não dura menos de 24 meses, é extremamente complexa, e depende de variáveis como: o clima – chuva, vento, sol; as variações de temperatura; o manuseio das pilhas e, ainda, de factores biológicos – deposição de fungos e bactérias.

As principais fontes de variação no processo de secagem ao ar livre são, entre outras: os volumes de precipitação, a temperatura média anual, a sua repartição em volume de madeira por pilha, ventos, humidade relativa do ar (Taransaud, 1976; Pontalier, 1981; Vivas, 1998).

Joseph e Marché (1972) efectuaram os primeiros trabalhos neste campo, revelando a complexidade dos fenómenos associados ao processo, quando realizados de forma natural, ao ar livre. Os autores descobriram uma flora diversificada, representada por fungos e algumas bactérias sobre a madeira e nas suas camadas mais profundas.

Recentemente foi confirmada a existência de microrganismos capazes de modificar a composição química da madeira quando estabelecida no campo de secagem, ao ar livre, por determinado período de tempo (Vivas, 1993b).

A partir de então surge uma nova concepção sobre o processo de secagem, provando que este procedimento em tanoaria representa uma etapa de desidratação da madeira. A

desidratação é necessária para unir as peças dos tonéis, dar forma às barricas e, sobretudo, proporcionar uma etapa de maturação da própria madeira, comparada à das uvas na confecção do vinho (Vivas, 1993b)

O carvalho, no seu estado recém-abatido, possui 65 a 75% de humidade. Após perder a sua água livre durante o processo de secagem, as suas dimensões mudam, sendo que o seu volume é retraído. A taxa de humidade média da madeira utilizada para o fabrico das barricas, para a região de Bourdeaux (França), é de 15%. Nas regiões mais secas, essa taxa cai para 12% e, em lugares de elevada humidade relativa, esse valor pode atingir os 18% (Vivas, 1993b).

Os elagitaninos são moléculas facilmente oxidadas em solução, pelo oxigénio do ar ou pelo peróxido de hidrogénio. Neste sentido, muitos autores declaram que a diminuição dos teores destes compostos fenólicos é devida a essa oxidação, durante o processo de secagem (Chatonnet, 1995).

#### 1.1.6.2. TRATAMENTO TÉRMICO

No início do século as grandes tanoarias francesas utilizavam o vapor (Taransaud, 1976), técnica que provocou grandes controvérsias e que deixou de ser utilizada na Europa, sendo, contudo, utilizada nos Estados Unidos da América. Tradicionalmente, na Europa, o tratamento térmico decorre sob o efeito do fogo directo no interior da barrica e com humedecimento interior e, sobretudo, exterior (Chatonnet e Boindron, 1989).

Teoricamente o tipo ou nível de tosta é definido pela intensidade (temperatura) e/ ou pela duração do tratamento, sendo-lhe atribuída a designação de “ligeira”, “média” ou “forte”. Segundo Aquino (2004) as temperaturas de tosta podem ser definidas como branda (115- 125°C), média (200-215°C) ou forte (220-230°C). Porém encontram-se descritos na literatura vários binómios tempo/temperatura para definir intensidades de tosta.

Os estudos realizados com o objectivo de definir os parâmetros característicos da tosta – tempo e temperatura – demonstraram claramente que se trata de um conceito subjectivo (Chatonnet e Boindron, 1989; Sarni *et al.*, 1990b; Chatonnet *et al.*, 1993; Chatonnet, 1995b).

No caso de barricas onde ocorre a tosta da madeira, a concentração de aldeídos fenólicos é dependente da temperatura e do tempo de exposição ao fogo. Para as barricas de madeira submetida a tratamento térmico a temperaturas mais elevadas,

observa-se um aumento significativo no conteúdo em vanilina, siringaldeído, sinapaldeído e coniferaldeído extraídos (Aquino, 2004; Campos *et al.*, 2004).

Nos últimos 20 anos, numerosos trabalhos têm incidido nos efeitos da tosta sobre a constituição da madeira de carvalho Francês e Americano (Sarni *et al.*, 1990a, b; Sarni *et al.*, 1990; Chatonnet *et al.*, 1989; Chatonnet, 1995a; Chatonnet, 1999; Hale *et al.*, 1999; Matricardi & Waterhouse, 1999) e as suas implicações nas características químicas e organolépticas de aguardentes e vinhos envelhecidos (Puech, 1978; Boindrot *et al.*, 1988; Francis *et al.*, 1992).

O trabalho de Pereira (1998), acerca da influência da madeira sobre o teor de vários compostos, nomeadamente ésteres, ácidos, fenóis voláteis e  $\beta$ -metil- $\gamma$ -lactona e da influência da intensidade da tosta sobre o teor de fenóis voláteis, aldeídos furânicos e vanilina, permitiu concluir que houve um aumento do teor destes compostos com o aumento da intensidade da tosta.

O ácido siríntrico, o ácido vanílico e o ácido ferúlico são ácidos fenólicos associados à lenhina. Durante o tratamento térmico, pela acção da temperatura, a lenhina é degradada dando origem a aldeídos fenólicos como o siringaldeído, o sinapaldeído, a vanilina e o coniferaldeído. Por sua vez, pelo aumento continuado da temperatura, estes aldeídos vão dar origem a ácidos fenólicos: o siringaldeído dá origem ao ácido siríntrico, o sinapaldeído dá origem ao ácido sinápico, a vanilina dá origem ao ácido vanílico e o coniferaldeído dá origem ao ácido ferúlico. No entanto, o aumento da temperatura também pode originar siringaldeído a partir de sinapaldeído, e originar vanilina a partir do coniferaldeído (Canas & Caldeira, 2009).

#### 1.1.7. AS APARAS

Hoje em dia, continuam a utilizar-se barricas de carvalho no envelhecimento de vinhos, com o objectivo de obter um produto final de elevada qualidade. No entanto, principalmente devido ao custo das barricas, os produtores de vinho têm procurado produtos alternativos disponíveis no mercado, nomeadamente aduelas e aparas de madeira de carvalho. As empresas que fabricam estes produtos apresentam um leque de opções que vai desde o tamanho, ao tipo de tosta e modo de utilização.

A intenção dos produtores, ao utilizarem as aparas ou aduelas de carvalho, é enriquecer a complexidade de aromas e sabores dos seus vinhos, de forma mais económica e satisfazendo os consumidores.

A utilização de fragmentos de madeira de carvalho na elaboração de vinhos foi regulamentada em 2005 pela *Organisation Internationale de la Vigne et du Vin* (OIV) através da *Resolution Oeno 3/2005*, tendo esta norma sido transposta para a regulamentação comunitária pelo Regulamento (CE) nº2165/2005 do Conselho de 20 de Dezembro e pelo Regulamento (CE) nº 1507/2006 da Comissão de 11 de Outubro.

Uma vantagem que as alternativas às barricas apresentam, sejam aparas, aduelas ou pó, é o facto de serem ultrapassadas as barreiras físicas ou mecânicas que as madeiras possam ter, como serem muito pesadas ou muito porosas, conseguindo-se tirar partido dos aromas potenciais que possuem para enriquecer o vinho quando estão em contacto com elas. A aplicação de aparas é diferente do uso de barricas: com as barricas “coloca-se o vinho na madeira” e com as aparas “coloca-se madeira no vinho”. A aplicação da madeira no vinho permite alargar o leque de possibilidades na escolha do tipo de madeira que mais nos interessa usar para enriquecer determinado vinho e alcançar o bouquet idealizado.

O conhecimento dos compostos extraíveis que constituem as aparas, e principalmente a sua concentração, será uma vantagem na altura de escolher a madeira/ tamanho/ tosta mais adequada, para determinado vinho.

Quando a madeira é introduzida no vinho, e não o vinho dentro da madeira, toda a área de superfície é utilizada e não apenas 40% desta (Stutz, Lin & Herdman, 1999).

As aparas de carvalho são usadas principalmente para acelerar o processo de envelhecimento (Rogers, 2002). Spillmann (1999) estudou os factores que afectam as propriedades aromáticas do vinho envelhecido em barricas de carvalho e do vinho com aparas de carvalho, e relatou que as aparas de carvalho dão resultados menos satisfatórios do que aquele em barricas. Por outro lado, os métodos mais comuns para encurtar o período de envelhecimento de bebidas alcoólicas são aqueles que envolvem o uso de extractos de madeira de carvalho (Maga, 1985; Pollnitz *et al*, 1999) com ou sem tratamento prévio da madeira.

Piracci *et al*. (2001) estudaram o uso de madeira (barricas, aparas ou aduelas) no processo de vinificação e de conservação do vinho e concluíram que todos os casos foram caracterizados por um refinamento e estabilização da cor do vinho.

A utilização de aparas é um método económico de adicionar madeira aos vinhos, contribuindo para a estabilização da matéria corante dos vinhos tintos, aumentando a complexidade aromática e estrutura, melhorando a persistência e o fim de boca. As

aparas de carvalho podem ser aplicadas recorrendo a sacos de infusão ou através de adição directa no vinho.

A utilização de pó de carvalho também é um método económico que, para além de estabilizar a matéria corante dos vinhos tintos, contribui para a remoção de aromas vegetais ou herbáceos em vinhos brancos e tintos. Sendo pó, apresenta uma elevada reactividade, o que permite uma extracção elevada em curtos períodos de contacto. Porém, as aparas permitem tempos de contacto superiores e consequente capacidade de obter maior complexidade nos vinhos ([www.oaksolutionsgroup.com](http://www.oaksolutionsgroup.com)).

## 1.2. OS COMPOSTOS FENÓLICOS

Os compostos fenólicos caracterizam-se por possuírem pelo menos um grupo hidroxilo ligado a um anel aromático. Podem ser classificados em flavonóides e não flavonóides, de acordo com a sua estrutura carbonada (Ribéreau-Gayon, 1968). Nas madeiras de carvalho francês e americano, cerca de 90% dos compostos fenólicos são não flavonóides (Quinn & Singleton, 1985).

Alguns compostos fenólicos podem ser extraídos da madeira durante o envelhecimento dos vinhos, e algumas reacções de oxidação também podem ocorrer aumentando a estabilidade do vinho e as características sensoriais agradáveis que a madeira lhe transmite (Bravo *et al.*, 2006). Estes compostos extraíveis da madeira podem ser derivados dos biopolímeros de massa molecular alta ou ser depositados pela seiva, sem participar na estrutura da parede celular (Masson *et al.*, 1996).

O vasto grupo dos compostos orgânicos da madeira, comuns a todos os vegetais, integra ácidos gordos, álcoois, glúcidos, compostos terpénicos, norisoprenóides, carotenóides, lactonas e compostos fenólicos (Masson *et al.*, 1996).

Os principais compostos fenólicos existentes nas madeiras e que influenciam as características das bebidas envelhecidas são:

### A- ÁCIDOS FENÓLICOS LIVRES

Caracterizam-se por terem um anel benzénico, um grupo carbonilo e um, ou mais, grupos de hidróxi e/ou metóxi na molécula, conferindo propriedades antioxidantes, tanto para os alimentos como para o organismo, sendo, por isso, indicados para o tratamento e prevenção do cancro, doenças cardiovasculares e outras doenças (Kerry & Abbey, 1997; Bravo, 1998; Ferguson & Harris, 1999).

Segundo Soares (2002) os ácidos fenólicos são divididos em três grupos, o primeiro dos quais é composto pelos ácidos benzóicos, que possuem sete átomos de carbono (C6 – C1) e são os ácidos fenólicos mais simples encontrados na natureza, por exemplo, o ácido vanílico, o ácido gálico e o ácido sirínico. Outro grupo dos ácidos fenólicos é formado pelos ácidos cinâmicos, que possuem nove átomos de carbono (C6 – C3), sendo o ácido ferúlico um dos mais encontrados no reino vegetal.

Os principais ácidos fenólicos livres, identificados na madeira do carvalho, são o ácido gálico, o ácido elágico, o ácido vanílico, o ácido sirínico e o ácido ferúlico (Vivas, 1998). Estas moléculas provêm da biossíntese de compostos fenólicos ou da oxidação de aldeídos fenólicos (Peuch, 1978). A origem do ácido elágico livre explica-se por uma hidrólise parcial dos elagitaninos da madeira do carvalho enquanto que o ácido gálico é proveniente da hidrólise dos galotaninos (Chatonnet, 1991; Vivas, 1998).

#### B- ALDEÍDOS FENÓLICOS

A identificação dos aldeídos fenólicos da madeira do carvalho foi realizada por Black *et al.* (1953) e Perl *et al.* (1957) citados por Vivas (1998). São dois aldeídos da série hidroxibenzóica (vanilina e coniferaldeído) e dois da série hidroxicinâmica (sinapaldeído e seringaldeído).

Segundo Vivas (1998) e Seikel (1971), o teor médio de aldeídos fenólicos totais é perto de 10µg/g, em diferentes amostras de carvalho, sendo que os aldeídos hidroxibenzóicos aparecem em quantidades superiores aos cinâmicos.

Estes aldeídos aparecem nas madeiras por acção do tratamento térmico sobre a lenhina, podendo, quando sujeitos a temperaturas muito elevadas, dar origem aos correspondentes ácidos fenólicos livres (Canas & Caldeira, 2009).

#### C- ALDEÍDOS FURÂNICOS

São compostos heterocíclicos que contêm um anel furânico (Campos, 1987). Nas madeiras encontram-se em baixa concentração, aparecendo essencialmente com o processo térmico a que as madeiras são sujeitas. Existem em muito baixa concentração na madeira não tostada (Boindron *et al.*, 1988; Chatonnet *et al.*, 1989; Marco *et al.*, 1994), sendo produzidos em quantidades apreciáveis durante o tratamento térmico (Barbe *et al.*, 1998).

Os principais aldeídos furânicos são o furfural, o 5-metilfurfural e o 5-hidroximetilfurfural. O furfural provém da degradação das pentoses ligadas às

hemiceluloses, enquanto os outros dois compostos provêm da degradação térmica de glucoses do polímero celulose (Canas & Caldeira, 2009).

#### D- CUMARINAS

As cumarinas estão presentes em numerosos indivíduos do reino vegetal, e derivam dos ácidos cinâmicos (Canas, 2003). São produzidas em grande quantidade, em resposta a um ataque microbiológico e parecem constituir um meio de defesa das plantas (Vivas, 1998).

#### E- TANINOS

Os taninos são constituintes fenólicos que se podem combinar com proteínas para a formação de complexos solúveis e insolúveis (Vivas, 1997; Chatonnet, 1995). A principal propriedade organoléptica dos taninos é a adstringência e o amargor (Dousot, 2000).

Os taninos dividem-se em dois grupos, os condensados e os hidrolisáveis. Os primeiros são oligómeros ou polímeros de 3-flavonois. Os principais monómeros são a (+) catequina e a (-) epicatequina, estão essencialmente localizados na casca da madeira. Os taninos hidrolisáveis dividem-se em dois grupos, os galotaninos e os elagitaninos que dão origem respectivamente ao ácido gálico e ao ácido elágico por da hidrólise. O aumento do teor em ácido elágico e em ácido gálico associado ao tratamento térmico é explicado pela degradação dos taninos hidrolisáveis (Roque, 2008).

Os compostos fenólicos da madeira assumem grande importância em virtude do seu envolvimento (Canas & Caldeira, 2004):

- i) nalgumas das propriedades mais importantes da madeira, condicionando a sua aptidão para tanoaria;
- ii) nas características físico - químicas e organolépticas dos vinhos que contactem com a madeira, contribuindo por isso para a sua diferenciação;
- iii) nos potenciais efeitos benéficos para a saúde humana, com especial incidência em doenças cardiovasculares, doenças neurodegenerativas, tumores e distúrbios gastrointestinais.

A natureza química e a concentração em compostos fenólicos depositados aquando da duramização, depende muito da espécie botânica (Helm *et al.*, 1997; Mosedale, 1995).



A composição da madeira é variável, do ponto de vista quantitativo e qualitativo, com a espécie botânica (variabilidade inter-específica), com a origem geográfica, com a árvore, e com a idade da madeira (variabilidade intra-específica). O conhecimento dos factores que controlam a expressão de tal variabilidade é fundamental para os técnicos (tanoaria, enologia, entre outros), de forma a otimizar a exploração da madeira e tornar possível a previsão dos seus efeitos no envelhecimento de vinhos. Para além disso, aquando da comparação de resultados de diferentes trabalhos, é importante ter em conta que parte das diferenças encontradas podem ter sido induzidas pelo delineamento experimental e/ou pela metodologia analítica (amostragem, extracção, preparação das amostras, métodos analíticos, entre outros) (Canas & Caldeira, 2004).

No que diz respeito à qualidade da madeira utilizada, deve-se ter em conta aspectos muito importantes: a serração das aduelas modifica a qualidade da madeira; a secagem em estufa suprime a acção das chuvas sobre os polifenóis, isto é, a lixiviação, hidrólise ou condensação; a intensidade do aquecimento na tosta modifica de forma mais ou menos moderada os compostos químicos da madeira (Navarre, 1997).

A diferenciação das madeiras através de aspectos quantitativos e qualitativos da sua composição química tem sido amplamente referenciada: pelo teor de polifenóis extraíveis entre carvalhos americanos e europeus – *Quercus robur* e *Q. sessiliflora* (Quinn e Singleton, 1985; Scalbert *et al.*, 1986, 1990b; Chatonnet, 1995; Chatonnet e Durboudieu, 1998); pelos ácidos e aldeídos fenólicos entre *Q. Robur* e *Q. Alba* (Miller *et al.*, 1992) e entre *Q. robur* e *Q. sessiliflora* (Dousset *et al.*, 2000); pelos elagitaninos entre castanheiro e carvalhos (Viriot *et al.*, 1994; Vivas *et al.*, 1996a ), entre *Q. robur* e *Q. sessiliflora* (Mosedale e Savill, 1996; Mosedale *et al.*, 1996b; Feuillat *et al.*, 1999; Doussot *et al.*, 2000) e entre diversas espécies.

Segundo Chatonnet (1992), a tosta permite corrigir certas características menos desejáveis da madeira. Por exemplo, a madeira de *Q. sessiliflora* (carvalho francês – europeu) confere carácter menos resinoso quando tostada, sendo também evitado o excessivo impacto aromático. Para tal é preferível realizar uma tosta entre média e forte. Já na *Q. robur* (carvalho americano) a tosta forte é mais adequada, no sentido de reduzir o teor em taninos.

Alguns dos compostos da madeira de carvalho podem ser libertados directamente para o vinho, enquanto outros são originados a partir dos seus componentes naturais, durante o processo de secagem (Vivas, 1954 e 1997) e o processo de tosta (Cutzach, 1997).



Muitos trabalhos têm evidenciado a forte variabilidade do teor de compostos fenólicos da madeira de carvalho, em função da espécie e da origem geográfica (Guymon e Crowell, 1970; Miller *et al.*, 1992; Moselade, 1995; Canas *et al.*, 2000).

Segundo o trabalho de Canas *et al.* (2003) a razão aldeídos benzóicos/ cinâmicos parece adequada para avaliar se no envelhecimento foi usada madeira de castanheiro ou de carvalho. Contrariamente, os teores e as razões dos aldeídos furânicos não podem ser usados como marcadores do envelhecimento em madeira, face à sua estreita associação a factores interdependentes como a espécie botânica e o nível de tosta.

Estudos realizados acerca da contribuição do carvalho para as características olfactivas do vinho, têm mostrado que estas são influenciadas principalmente por compostos como o furfural, guaiacol, eugenol, vanilina, e seringaldeído (Pollnitz, *et al.*, 1999; Mosedale, *et al.*, 1999; Perez-Coello *et al.*, 1999; Spillman *et al.*, 1998; Spillman, 1997; Chatonnet *et al.*, 1999).

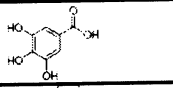
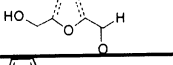
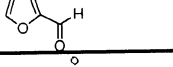
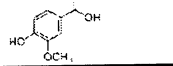

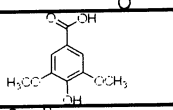
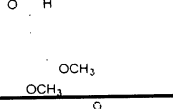
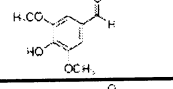
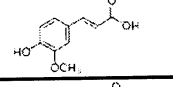
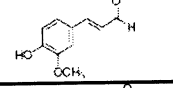
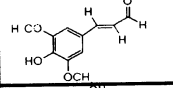
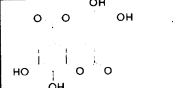
## 2. OBJECTIVOS

Os objectivos do trabalho são:

- 1 - avaliar o efeito da intensidade da tosta no teor em compostos fenólicos, em aparas de carvalho Francês;
- 2 - avaliar o efeito da espécie e origem geográfica de diferentes madeiras – carvalho Francês, Americano, Português, e castanheiro Português – no teor em compostos fenólicos.

Os compostos em estudo são ácidos fenólicos, aldeídos fenólicos e aldeídos furânicos, cujas características químicas são apresentadas na tabela nº 1.

Tabela nº 1: Características químicas dos compostos em estudo.

Composto	Família química	Fórmula química	Mw (g.mol <sup>-1</sup> )	Estrutura química
Ácido gálico	Ácido fenólico	$(\text{HO})_3\text{C}_6\text{H}_2\text{CO}_2\text{H}$	170,12	
5-OHMefurfural	Aldeído furânico	$\text{C}_6\text{H}_6\text{O}_3$	126,11	
Furfural	Aldeído furânico	$\text{C}_5\text{H}_4\text{O}_2$	96,08	
Ácido vanílico	Ácido fenólico	$\text{HOC}_6\text{H}_3(\text{OCH}_3)\text{CO}_2\text{H}$	168,15	
5-Mefurfural	Aldeído furânico	$\text{C}_6\text{H}_6\text{O}_2$	110,11	
Ácido Sirínico	Ácido fenólico	$\text{HOC}_6\text{H}_2(\text{OCH}_3)_2\text{CO}_2\text{H}$	198,17	
Vanilína	Aldeído fenólico	$(\text{CH}_3\text{O})_2\text{C}_6\text{H}_3\text{CHO}$	166,17	
Seringaldeído	Aldeído fenólico	$\text{HOC}_6\text{H}_2(\text{OCH}_3)_2\text{CHO}$	182,17	
Ácido Ferúlico	Ácido fenólico	$\text{HOC}_6\text{H}_3(\text{OCH}_3)\text{CH}=\text{CHCO}_2\text{H}$	194,18	
Coniferaldeído	Aldeído fenólico	$\text{HOC}_6\text{H}_3(\text{OCH}_3)\text{CH}=\text{CHCHO}$	178,18	
Sinapaldeído	Aldeído fenólico	$\text{HOC}_6\text{H}_2(\text{OCH}_3)_2\text{CH}=\text{CHCHO}$	208,21	
Ácido Elágico	Ácido fenólico	$\text{C}_{14}\text{H}_6\text{O}_8$	302,19	

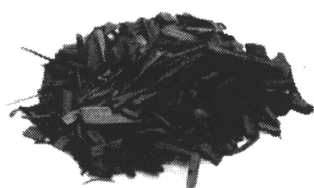
### 3. MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1. AMOSTRAS: APARAS DE MADEIRA

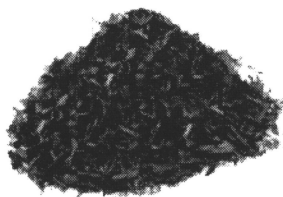
As amostras de aparas de madeira foram fornecidas pela Tanoaria J.M. Gonçalves, Lda., cujas características se apresentam na tabela nº 2.

Tabela nº 2: Características das aparas de madeira em estudo

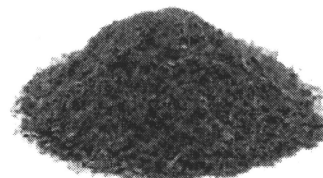
TIPO DE MADEIRA	DIMENSÃO	NÍVEL DE TOSTA
CARVALHO FRANCÊS	Pó	Sem tosta
		Tosta média
		Tosta média +
	Pequena nº3	Sem tosta
		Tosta ligeira
		Tosta média
		Tosta forte
CARVALHO NACIONAL DO GERÊS	Pequena nº3	Tosta média
CASTANHEIRO NACIONAL	Pequena nº2	Tosta média
CARVALHO AMERICANO	Pequena nº3	Tosta média



Aparas Pequenas n.º 3



Aparas Pequenas n.º 2



Pó

#### 3.2. REAGENTES, PADRÕES E CONSUMÍVEIS

O ácido gálico, ácido vanílico, ácido sirínico e o ácido ferúlico foram adquiridos à Extrasynthèse (Genay, France); o ácido elágico, 5-hidroxi-metilfurfural, 5-metilfurfural e o seringaldeído foram adquiridos à Acros Organics; o sinapaldeído e o coniferaldeído foram adquiridos à Aldrich (Steinheim, Alemanha); o furfural e vanilina foram adquiridos à Merck (Darmstadt, Alemanha); e o 4-hidroxibenzaldeído (padrão interno) foi adquirido à Lancaster.

Para a pesagem das substâncias padrão foi utilizada uma balança *Precisa 205 A* SCS 0,0001g.

No método de extracção, apresentado mais à frente, foi utilizado como solvente metanol de qualidade HPLC adquirido à Merck (Alemanha); e vários consumíveis foram

adquiridos à Dionex: terra de diatomáceas 100% Dionex ASE® Prep DE, uma célula inox de 10mL Dionex P/N 060070 ASE 1,3; e filtros de fibra de vidro e celulose Dionex P/N 056780.

Na preparação dos solventes para cromatografia foram utilizados metanol e ácido fórmico de qualidade HPLC, ambos adquiridos à Merck (Alemanha), e água pura de um sistema Millipore, filtrados com filtros de 0,45 µm Supor ou Nylaflo (Gelman Sciences). Para filtrar as amostras antes da injeção no cromatógrafo usaram-se filtros Sartolon polyamid de 0,45µm, da Sartorius Stedim Biotech (Alemanha).

### 3.3. MÉTODO DE PREPARAÇÃO DAS AMOSTRAS

As amostras de aparas de carvalho cuja referência é n.º 3 e as amostras de aparas de castanheiro cuja referência é n.º.2, são consideradas pelo fabricante aparas de tamanho pequeno. Pela sua dimensão, forma e heterogeneidade, foi necessário moer uma porção de cada tipo de apara para reduzir o tamanho, tornando possível a pesagem de 500mg para cada extracção, aumentando a superfície específica para a extracção de compostos. Desta forma também foi possível estudar todas as aparas em igualdade de factores, sem que o tamanho se tornasse uma fonte de variação para os resultados obtidos, uma vez que no nosso estudo também havia amostras de carvalho Francês em pó.

### 3.4. MÉTODO DE EXTRACÇÃO DOS COMPOSTOS FENÓLICOS

O método utilizado para extrair os compostos fenólicos, das amostras de aparas, foi levado a cabo num equipamento Dionex ASE 100, Accelerated Solvent Extractor, isto é, foi usado um método de extracção com líquido pressurizado a temperatura controlada, o qual combina o efeito da temperatura e da pressão sobre a amostra no estado sólido (em pó) dispersada por terras de diatomáceas em quantidade suficiente para encher uma célula de extracção de inox de 10mL, com um filtro a cada topo, para onde o solvente de extracção, no caso metanol, é injectado sob pressão e depois libertado, arrastando deste modo os compostos extraíveis.

O programa de extracção que foi programado no ASE tinha os seguintes parâmetros: Temperatura: 150°C; Cell heat up: 0 minutos; Static time: 10 minutos; Flush volume: 60%; Purge time: 60 segundos; Static cycles: 3; Total time: 30 minutos; Total volume: 37-39mL.

Os extractos de metanol obtidos foram evaporadas até à secura num evaporador rotativo, o resíduo seco foi diluído em 2 mL de metanol:água (1:1) ao qual se adicionou 50µL do padrão interno. As extracções foram feitas em duplicado para cada amostra em estudo. De cada extracto foram realizadas 2 injeções no cromatógrafo, dando origem desta forma a 4 conjuntos de resultados para cada amostra, sendo os resultados expressos como a média dos resultados obtidos.

Na tentativa de optimização de um método de extracção com líquido pressurizado (PLE) para a extracção dos compostos fenólicos presentes em aparas de madeira, foram testadas diversas condições experimentais, tais como: o solvente de extracção (metanol/ diclorometano), a temperatura (100°C/ 150°C) e o número de ciclos de extracção (2/3). A análise dos cromatogramas de HPLC referentes aos extractos obtidos, utilizando diferentes condições experimentais, permitiu concluir que o método de extracção que utilizava como solvente o metanol, uma temperatura de 150°C e 3 ciclos de extracção era o mais adequado para esta finalidade, uma vez que permitia extrair um maior número e uma maior quantidade de compostos fenólicos das amostras de madeira (Cabrita, 2010). Um exemplo de um cromatograma obtido para estas condições de extracção encontra-se na figura nº 1.

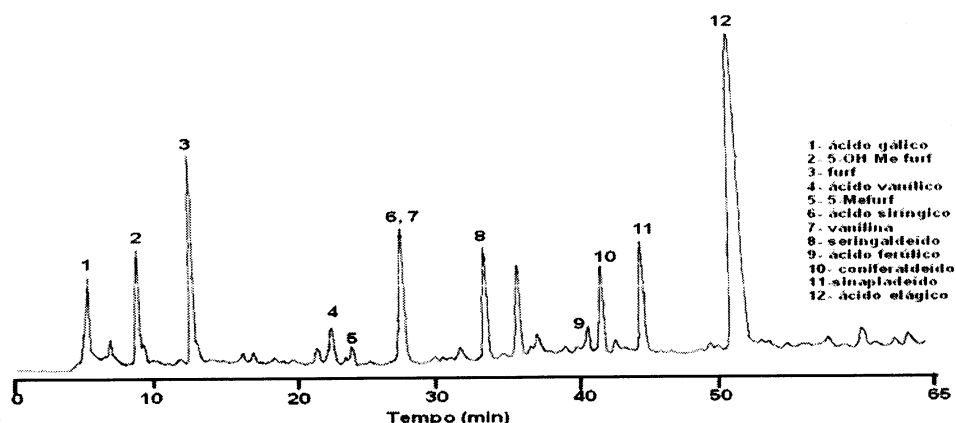


Figura nº 1- Cromatograma de HPLC correspondente à extracção dos compostos fenólicos de aparas de carvalho francês por PLE (Condições: T=150°C; Solvente: metanol; 3 ciclos de extracção). As condições cromatográficas encontram-se descritas na secção 3.5.. Os compostos assinalados foram identificados por comparação do tempo de retenção com os dos compostos padrão.

### 3.5. MÉTODO CROMATOGRÁFICO

O cromatógrafo utilizado para a cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) foi um Dionex, equipado com uma bomba quaternária Dionex GP50 Gradient Pump, um forno

Dionex LC30 Chromatography Oven, e um detector DAD de lâmpada Ultra Violeta Dionex UVD170U. Foi utilizado um injector Dionex Rheodyne com um loop de 25µL. Utilizou-se uma coluna em fase reversa Superspher® 100, C18 (5 µm packing, 250mm x 4,6mm i.d.) adquirida à Merck (Alemanha).

As condições cromatográficas utilizadas neste trabalho foram baseadas nas descritas por Canas, *et al* (2003). Contudo, foram introduzidas algumas alterações ao método de forma a otimizar a separação dos compostos 5-Mefurf, ácido siríngico e vanilina. Foram preparados dois solventes para a realização de um gradiente de separação na coluna cromatográfica, sendo o solvente A composto por água:ácido fórmico (98:2 (v/v)), e o solvente B composto por água:metanol:ácido fórmico (70:28:2 (v/v/v)). A lavagem da coluna, depois de cada dia de utilização, foi feita com água e metanol.

Para garantir a integridade da coluna e do aparelho, os solventes foram desgaseificados com hélio e os canais do cromatógrafo foram purgados aquando da adição ou substituição dos solventes.

A coluna cromatográfica encontrava-se no interior do forno associado ao cromatógrafo, o qual foi programado para a temperatura constante de 40°C.

O gradiente de eluição utilizado para a separação dos compostos fenólicos é apresentado na Tabela nº 3.

Tabela nº 3: Gradiente de eluição

TEMPO (minutos)	SOLVENTE A (%)	SOLVENTE B (%)
	Água: Ácido Fórmico (98:2 (v/v))	Água: Metanol: Ácido Fórmico (70:28:2 (v/v/v))
0	100	0
45	60	40
65	40	60

O fluxo utilizado foi 1 mL/min, o tempo total da corrida de cada injeção foi de 65 minutos.

Os comprimentos de onda utilizados foram 280nm, 320nm e 254nm, embora, para efeitos de quantificação tenha sido usado apenas 280nm.

O controlo, aquisição e tratamento dos dados cromatográficos foi efectuado recorrendo ao software *Chromeleon* (Dionex).

### 3.6. PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

#### 3.6.1. SOLUÇÕES PADRÃO

Nas condições cromatográficas apresentadas, foram injectadas quatro soluções padrão com concentrações conhecidas dos compostos em estudo, com o objectivo de identificar os tempos de retenção de cada composto de forma inequívoca, contendo todas 0,50mL de padrão interno (4-hidroxibenzaldeído a 20,4mg/L): solução de ácido elágico; solução de ácido gálico, 5-hidroxi metilfurfural, furfural, ácido vanílico, 5-metilfurfural, seringaldeído, ácido ferúlico, coniferaldeído e sinapaldeído; solução de ácido siríngico; e uma solução de vanilina.

Para a quantificação dos compostos em estudo, as soluções padrão foram preparadas com diferentes concentrações para obter curvas de calibração e respectiva equação da recta, uma para cada composto. Na preparação da solução de ácido elágico foi utilizado como solvente o etanol, visto que o ácido elágico não é solúvel na solução metanol:água, nas outras soluções padrão foi utilizado como solvente metanol:água (1:1). A partir de uma solução-mãe fizeram-se diluições.

Na tabela nº 4 apresenta-se a gama de concentrações das soluções padrão, e os tempos de retenção médios de cada composto fenólico.

Tabela nº 4: Concentração e tempos de retenção dos compostos fenólicos.

COMPOSTO FENÓLICO	GAMA DE CONCENTRAÇÃO (mg/L)	TEMPOS DE RETENÇÃO ± Desvio Padrão (minutos)
Ácido gálico	8,53 – 1279,5	6.39 ± 0.30
5-OH Mefurfural	1,19 – 119,0	12.36 ± 0.16
Furfural	1,128 – 112,8	17.07 ± 0.32
Padrão interno	20,4	23.90 ± 0.18
Ácido vanílico	8,51 – 170,2	26.07 ± 0.01
5-Mefurfural	5,93 – 118,6	29.46 ± 0.93
Ácido siríngico	9,95 – 199,0	30.81 ± 0.18
Vanilina	7,70 – 154,0	31.84 ± 0.16
Seringaldeído	9,19 – 294,08	37.56 ± 0.26
Ácido ferúlico	9,77 – 195,4	41.17 ± 0.24
Coniferaldeído	8,98 – 359,2	46.40 ± 0.39
Sinapaldeído	10,57 – 845,6	46.97 ± 0.51
Ácido elágico	200,80 – 3222,4	50,01 ± 0,52

### 3.6.2. IDENTIFICAÇÃO DO PICOS

Nos cromatogramas obtidos com as injeções das amostras das aparas, identificaram-se os picos por comparação com os tempos de retenção dos compostos das soluções padrão.

### 3.6.3. CONSTRUÇÃO DAS CURVAS DE CALIBRAÇÃO

Foram construídas doze curvas de calibração, uma para cada composto fenólico em estudo. Os parâmetros de calibração são apresentados na tabela nº 5.

Tabela nº 5: Parâmetros de calibração dos compostos em estudo

Composto	$\lambda$ (nm)	Equação da Curva	$r^2$
Ácido gálico	280	$y = 0,019 x$	0,9997
5-OHMefurfural	280	$y = 0,0504 x$	0,9998
Furfural	280	$y = 0,0632 x$	1
Ácido vanílico	280	$y = 0,0118 x$	9997
5-Mefurfural	280	$y = 0,0455 x$	1
Ácido Siríngico	280	$y = 0,0209 x$	0,9989
Vanilina	280	$y = 0,0315 x$	0,9978
Seringaldeído	280	$y = 0,0122 x$	1
Ácido Ferúlico	280	$y = 0,0174 x$	0,9961
Coniferaldeído	280	$y = 0,0103 x$	1
Sinapaldeído	280	$y = 0,005 x$	0,9978
Ácido Elágico	280	$y = 0,0145 x$	0,9995

$\lambda$ : comprimento de onda (nm);  $r^2$ : coeficiente de correlação

Para quantificar os compostos fenólicos das amostras de aparas, utiliza-se a equação da recta da curva de calibração, que diz respeito a cada composto, em que Y é a razão entre a área do pico do analito e a área do pico do padrão interno ( $A/A_{pi}$ ), no mesmo cromatograma, e X será a concentração do composto em causa.

Os coeficientes de correlação ( $R^2$ ) são elevados, atestando a linearidade das curvas na gama de concentrações estudada.



### 3.7. ANÁLISE ESTATÍSTICA

A análise estatística foi efectuada com o programa NCSS 2007.

As diferenças entre os compostos fenólicos presentes nas diferentes espécies botânicas, e nas aparas e no pó de carvalho francês submetido a diferentes intensidades de tosta foram avaliados através de uma ANOVA, usando o teste de comparação de médias de Tukey-Kramer.

#### 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A composição química da madeira de carvalho depende principalmente da espécie, da sua proveniência e dos vários tratamentos a que é sujeita na tanoaria, tal como a secagem e a tosta. Particularmente, a tosta tem uma significativa influência nos compostos químicos da madeira, modificando tanto a quantidade como a qualidade das substâncias extraíveis do carvalho (Vichi, 2007).

A maior ou menor riqueza em compostos fenólicos presentes nas madeiras de carvalho, utilizadas em tanoaria, constitui um factor determinante na sua aptidão enológica. Tal facto advém dos compostos fenólicos contribuírem para uma complexidade característica do vinho estagiado em presença de madeira. A operação de tosta/tosta, à qual a madeira é submetida durante o fabrico das barricas/ aparas, determina alterações ao nível dos compostos fenólicos presentes, contribuindo este facto, igualmente, para a maior ou menor aptidão enológica da madeira de carvalho utilizada (Roque, 2008).

Os resultados dos dois estudos efectuados encontram-se nas Tabelas nº 6, 7 e 8 no anexo I.

##### 4.1. ESTUDO DA COMPOSIÇÃO FENÓLICA DE APARAS DE CARVALHO FRANCÊS SUJEITAS A DIFERENTES NÍVEIS DE TOSTA

Ao longo dos tempos, o carvalho Francês comprovou ser a madeira de eleição para a tanoaria, devido às suas excelentes características químicas e físicas. A tosta permite integrar a madeira no vinho, podendo mesmo adaptar-se à sua tipicidade, contribuir para o seu enobrecimento com notas aromáticas de diferentes tipos, tais como baunilha, torrado, fumo, especiarias, etc. Pela importância que a tosta representa para a qualidade do vinho que contacta com a madeira, foram quantificados alguns compostos fenólicos para avaliar qual o efeito que a intensidade da tosta tem sobre estes. Os resultados são apresentados nas figuras nº 2, 3, 4, 5 e 6.

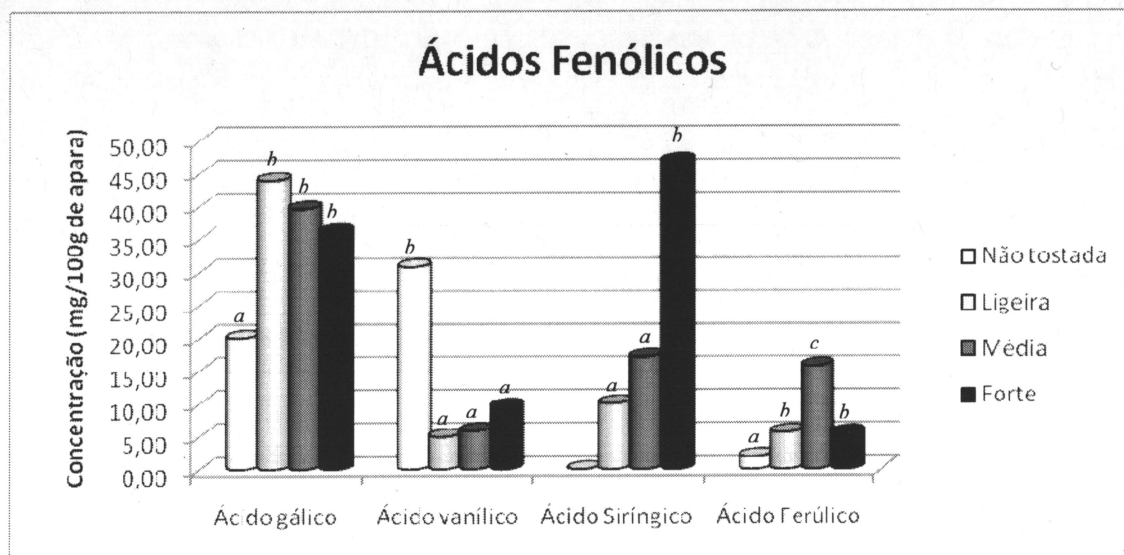


Figura nº 2: Concentração (mg/100g de aparas) em ácido gálico, ácido vanílico, ácido siríngico e ácido ferúlico em aparas de carvalho Francês nº3 nas diferentes tostas em estudo. Em cada composto, letras diferentes significam diferenças significativas entre os níveis de tosta para  $p < 0,05$ .

No que diz respeito aos ácidos fenólicos (Figura nº 2), a concentração do ácido gálico nas aparas sem tosta é aproximadamente metade da que se verifica nas aparas com tosta, apresentando-se nestas aparas uma ligeira diminuição no sentido do aumento da intensidade da tosta, não se verificando uma diferença significativa entre os teores obtidos.

A concentração de ácido vanílico nas aparas sem tosta é bastante superior à verificada nas aparas com tosta, ou seja, com os resultados obtidos pode-se verificar que o ácido vanílico está presente na madeira original, que o tratamento térmico, embora ligeiro, afecta negativamente a sua concentração. Embora de forma não significativa, o acréscimo da intensidade da tosta dá origem ao aparecimento do ácido vanílico, provavelmente devido à degradação de outras moléculas.

Quanto ao ácido siríngico verifica-se um aumento significativo de concentração das aparas com tosta ligeira e média, semelhantes entre si, para as aparas de tosta forte, o que sugere que este composto tem origem em moléculas que se degradam por serem sensíveis ao tratamento térmico.

O ácido ferúlico apresenta concentração crescente, significativamente, no sentido: sem tosta, tosta ligeira e tosta média, mas nas aparas com tosta forte a concentração é semelhante à das aparas com tosta ligeira, isto é, há um decréscimo claro.

De facto, verifica-se que o tratamento térmico a que as aparas foram sujeitas faz alterar a sua composição em ácidos fenólicos. Quando se aumenta a intensidade da tosta é

possível que alguns aldeídos fenólicos originem por oxidação dos correspondentes ácidos fenólicos. Aqui pode residir, por exemplo, a explicação dos elevados teores em ácido siríngico encontrados nas aparas com tosta mais intensa. No entanto, está documentado que aumentos significativos da temperatura de tosta podem levar à degradação dos ácidos fenólicos, o que poderá ser a explicação para o teor mais baixo encontrado para o ácido ferúlico nas aparas com tosta forte. O ácido ferúlico pode ser degradado dando origem a compostos voláteis como o guaiacol (Sarni *et al.*, 1990a). Pelos resultados obtidos para o ácido elágico (Figura nº 3) verifica-se que as diferenças de concentração entre as aparas sem tosta e as aparas com tosta, não são significativas, a significar que, aparentemente, não depende da intensidade do tratamento térmico.

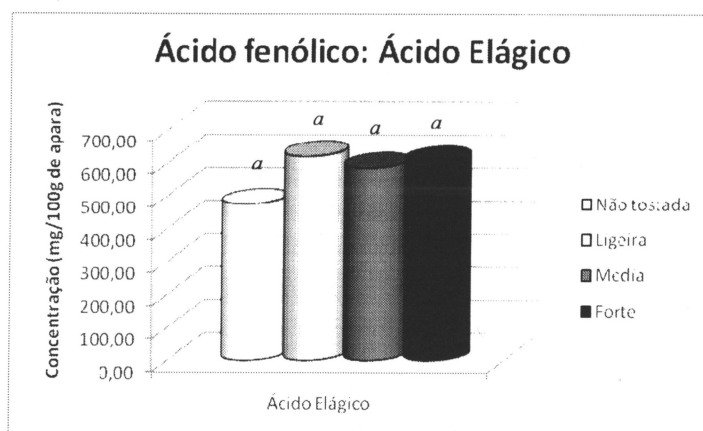


Figura nº 3: Concentração (mg/100g de apara) de ácido elágico em aparas de carvalho Francês nas diferentes tostas em estudo. Letras diferentes significam diferenças significativas entre os níveis de tosta para  $p < 0,05$ .

Os taninos elágicos, que compreendem os galotaninos e os elagitaninos, sofrem uma degradação por via da tosta (Moutounet *et al.*, 1989; Lavergne *et al.*, 1991; Sarni *et al.*, 1990b; Chatonnet, 1995b; Hale *et al.*, 1999; Matricardi & Waterhouse, 1999) o que limita consideravelmente a sua presença na madeira tostada. Nas reacções que ocorrem no processo de tosta, verifica-se que os galotaninos dão origem a ácido gálico e os elagitaninos dão origem a ácido elágico. Neste sentido, os resultados obtidos não evidenciam a ocorrência desses fenómenos. No entanto, o aumento da concentração de ácido gálico na madeira, por via da tosta, que é mais significativo que o aumento do teor em ácido elágico, pode ser atribuído não só à degradação dos taninos gálicos mas também de estruturas mais complexas, ainda desconhecidas (Sarni *et al.*, 1991).

Nos aldeídos furânicos em estudo (Figura nº 4) destaca-se uma concentração de 5-hidroximetilfurfural e de furfural significativamente superior nas aparas com tosta forte.

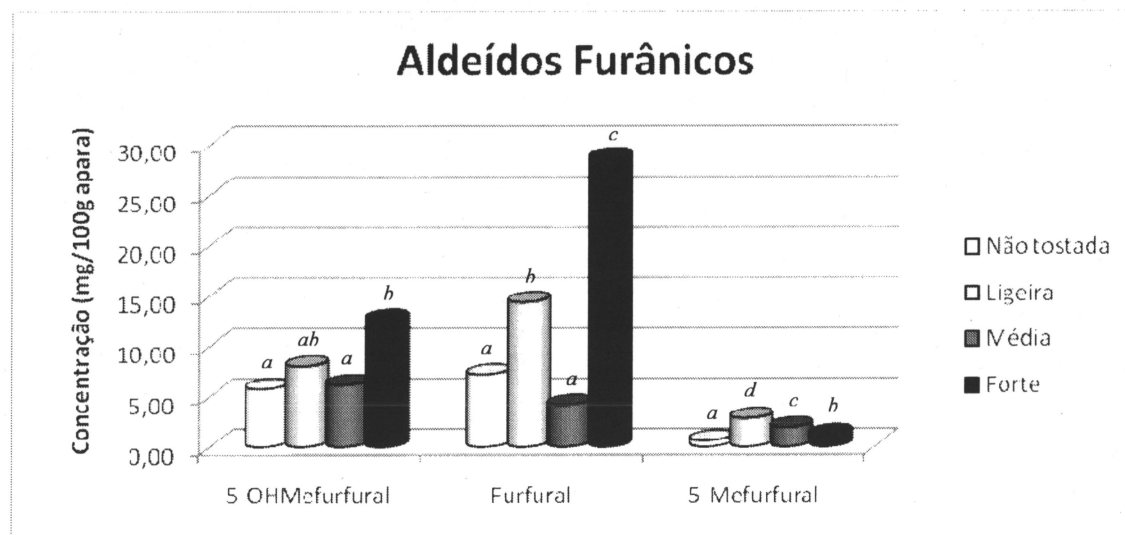


Figura nº 4: Concentração (mg/100g de apara) em 5-hidroximetilfurfural, furfural e 5-metilfurfural em aparas de carvalho Francês nas diferentes tosta em estudo. Em cada composto, letras diferentes significam diferenças significativas entre os níveis de tosta para  $p < 0,05$ .

Uma vez que o aparecimento destes compostos, nas madeiras sujeitas a tosta, está ligado à degradação das hemiceluloses e da celulose, seria de esperar que o aumento do nível de tosta induzisse o aumento destes compostos. No nosso caso os resultados obtidos para as aparas com tosta média não estão de acordo com o esperado.

O aquecimento, mesmo com temperaturas relativamente baixas (da ordem dos 120- 130 °C), promove a despolimerização, seguida de desidratação, das hemiceluloses. Da degradação das pentoses resulta o furfural (Hodge, 1967). Por isso verifica-se uma acumulação de furfural na madeira tostada (Hillis, 1984; Biermann *et al.*, 1987; Boindron *et al.*, 1988; Chatonnet, 1995b; Spillman *et al.*, 1997; Barbe *et al.*, 1998), tal como nós encontrámos nas aparas sujeitas a tosta forte.

A degradação térmica das hexoses do polímero celulósico envolve reacções de desidratação e de oxidação (Fengel & Wegener, 1989) e origina compostos como o 5-hidroximetilfurfural e o 5-metilfurfural, os quais podem também sofrer degradação com o aumento da temperatura (Hodge, 1967), o que nos pode ajudar a explicar a diminuição significativa do teor em 5-metilfurfural encontrado com o aumento do nível de tosta.

## Aldeídos Fenólicos

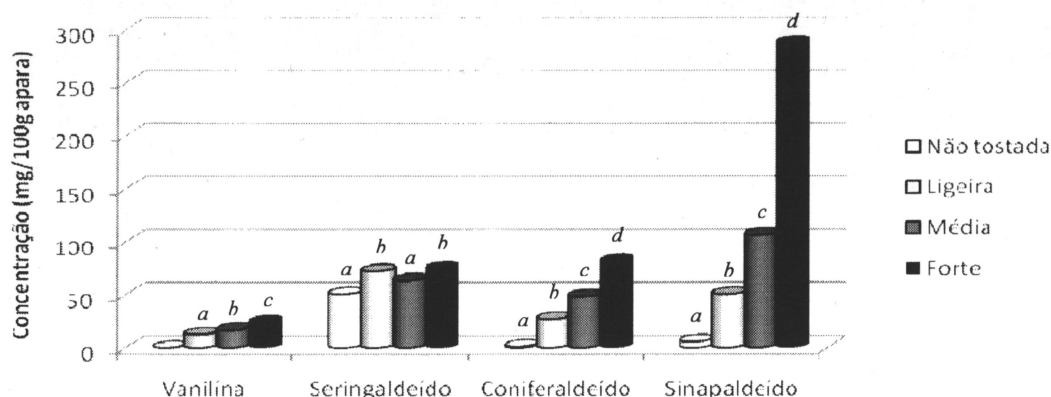


Figura nº 5: Concentração (mg/100g de aparas) em vanilina, seringaldeído, coniferaldeído e sinapaldeído em aparas de carvalho Francês nas diferentes tostas em estudo. Em cada composto, letras diferentes significam diferenças significativas entre os níveis de tosta para  $p < 0,05$ .

Nos aldeídos fenólicos (Figura nº 5) verifica-se que as concentrações de vanilina, de coniferaldeído e de sinapaldeído, de um modo muito claro e significativo, aumentam no sentido do acréscimo da intensidade da tosta. Estes resultados estão em concordância com o que afirma Aquino (2004) e Campos *et al.* (2004). Na concentração em seringaldeído, esta tendência de aumento não ocorre. Como referido anteriormente estes compostos aparecem por degradação da lenhina aquando da tosta das madeiras, por isso as aparas sem tosta apresentam valores tão baixos.

Chatonnet *et al.* (1989) afirmam que o teor em aldeídos fenólicos é mais elevado nas madeiras sujeitas a tostas médias, mas Artajona (1991) afirma que o teor nestes compostos vai aumentando com a intensidade da tosta.

Na Figura nº 6 apresentamos os teores totais em compostos fenólicos de baixo peso molecular, para as aparas em estudo. Constata-se que o nível de tosta crescente afecta positivamente o teor total em compostos fenólicos nas aparas de madeira. O efeito global da tosta sobre a composição fenólica da madeira será pois o reflexo do balanço entre as reacções de síntese e de degradação (Canas & Caldeira, 2009).

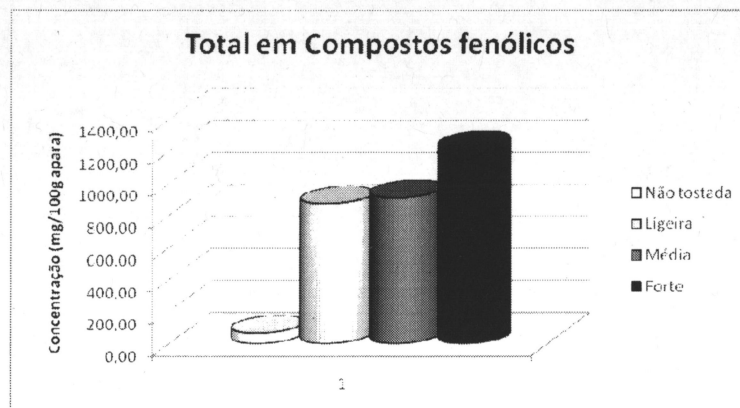


Figura nº 6: Concentração total (mg/100g de aparas) dos compostos fenólicos nas aparas de carvalho Francês, nas diferentes tostas em estudo.

No estudo da composição fenólica de carvalho francês sujeito a diferentes níveis de tosta foi incluído, para além das aparas de tamanho pequeno, uma análise a carvalho francês sob a forma de pó, também com diferentes níveis de tosta. Os níveis de tosta do pó, aqui apresentados, são: pó não tostado, pó com tosta média e pó com tosta média + (considerada pelo fabricante com uma intensidade de tosta intermédia entre a média e a forte). Os resultados obtidos encontram-se nas Figuras nº 7, 8, 9 e 10, onde a sua análise será comparativa com os resultados obtidos anteriormente, com as aparas de tamanho pequeno.

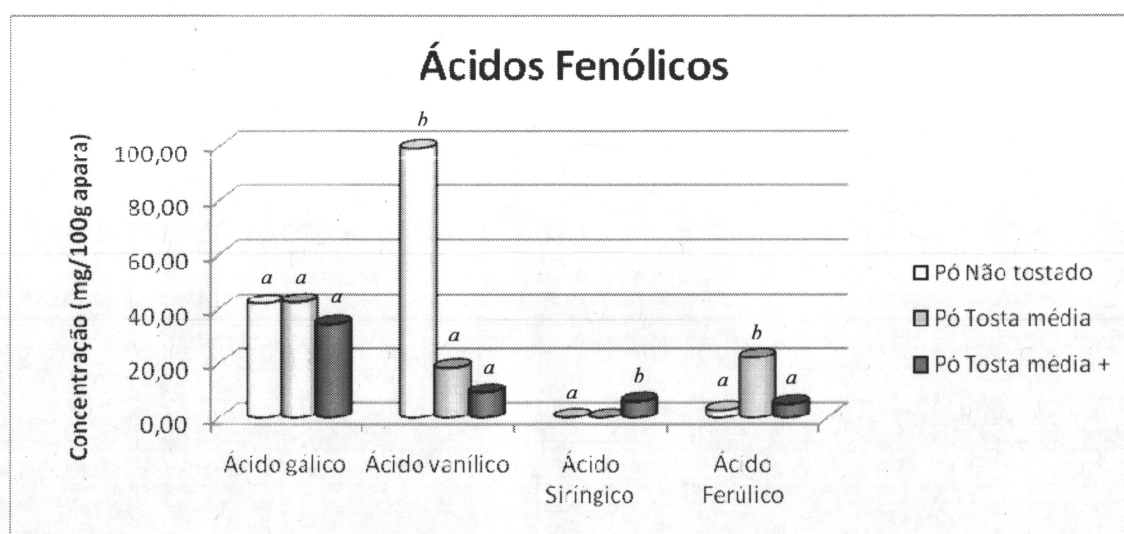


Figura nº 7: Concentração (mg/100g de pó) em ácido gálico, ácido vanílico, ácido siringico e ácido ferúlico em pó de carvalho Francês nas diferentes tostas em estudo. Em cada composto, letras diferentes significam diferenças significativas entre os níveis de tosta para  $p < 0,05$ .



A partir dos resultados obtidos no pó de carvalho, representados na Figura nº 7, verifica-se que a tendência da concentração do ácido vanílico, do ácido sirínico e de ácido ferúlico é semelhante à que ocorre nas aparas pequenas. A concentração do ácido gálico no pó de carvalho não tostado é semelhante aos teores encontrados para as amostras tostadas.

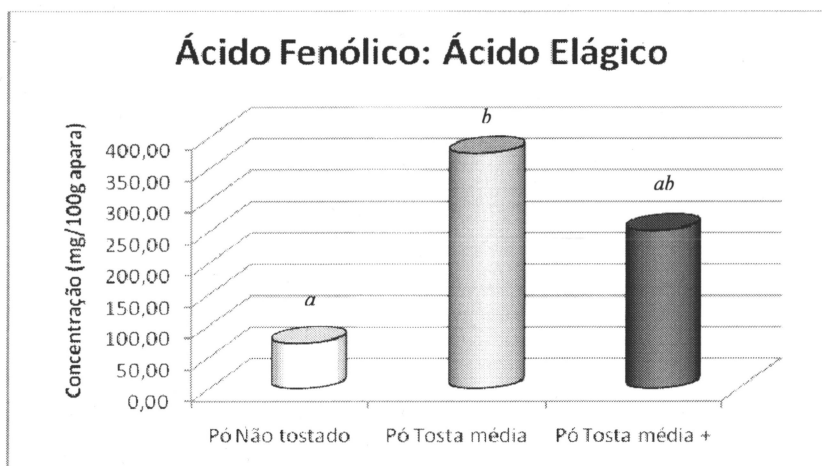


Figura nº 8: Concentração (mg/100g de apara) em ácido elágico em pó de carvalho Francês nas diferentes tosta em estudo. Letras diferentes significam diferenças significativas entre os níveis de tosta para  $p < 0,05$ .

Como se pode ver na Figura n.º 8, o teor em ácido elágico no pó com tosta média é significativamente superior àquele que se verifica no pó não tostado, e semelhante ao que se verifica no pó com tosta mais intensa, estes resultados não são concordantes com os verificados nas amostras de aparas de tamanho pequeno, em que na passagem da tosta média para uma tosta mais intensa o teor em ácido elágico é semelhante.



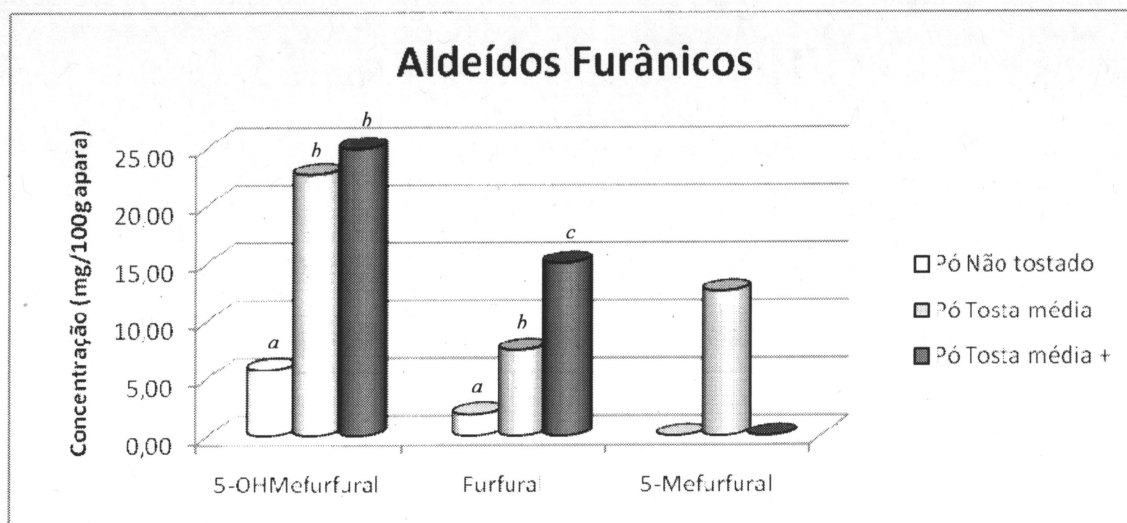


Figura nº 9: Concentração (mg/100g de apara) em 5-hidroximetilfurfural, furfural e 5-metilfurfural no pó de carvalho Francês nas diferentes tostas em estudo. Em cada composto, letras diferentes significam diferenças significativas entre os níveis de tosta para  $p < 0,05$ .

Os resultados obtidos com o pó de carvalho, no que diz respeito ao 5-hidroximetilfurfural e ao furfural (Figura nº 9), confirmam que o aumento da intensidade da tosta origina o aparecimento destes compostos. Apenas os resultados relativos ao 5-metilfurfural, não estão de acordo com a bibliografia, por que não nos foi possível detectar este composto nas amostras sem tosta e com tosta média +, resultado que não conseguimos explicar.

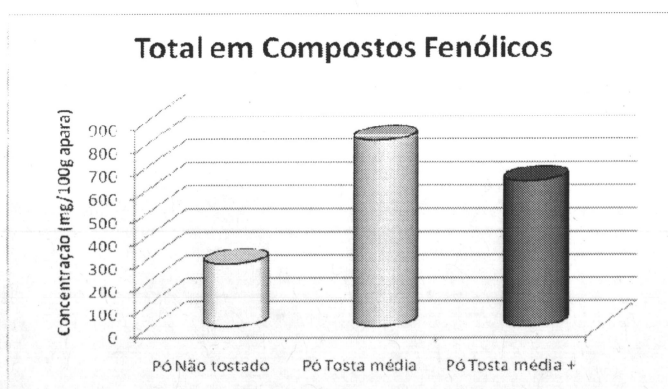


Figura nº 10: Concentração total (mg/100g de apara) dos compostos fenólicos no pó de carvalho Francês, nas diferentes tostas em estudo.

Na Figura nº 10 verifica-se que os teores totais em compostos fenólicos de baixo peso molecular, são notoriamente maiores no pó com tosta média, em comparação com o pó não tostado. Estes resultados são semelhantes aos encontrados nas aparas pequenas.

#### 4.2. ESTUDO DA COMPOSIÇÃO FENÓLICA DE APARAS COM TOSTA MÉDIA DE DIFERENTES ESPÉCIES BOTÂNICAS

Nas Figura nº 11, 12, 13 e 14, estão representados os resultados obtidos para a composição fenólica das aparas de tosta média das diferentes espécies botânicas a que dedicámos este estudo.

Observando os resultados da Figura nº 11, relativos à composição das diferentes espécies botânicas em ácidos fenólicos, verificamos que a sua composição é diferente. O castanheiro Nacional apresenta valores muito elevados de ácido siríntrico, enquanto o carvalho Nacional é a espécie que apresenta menores teores neste ácido. Porém é também a espécie que apresenta os teores mais elevados em ácido vanílico e ferúlico.

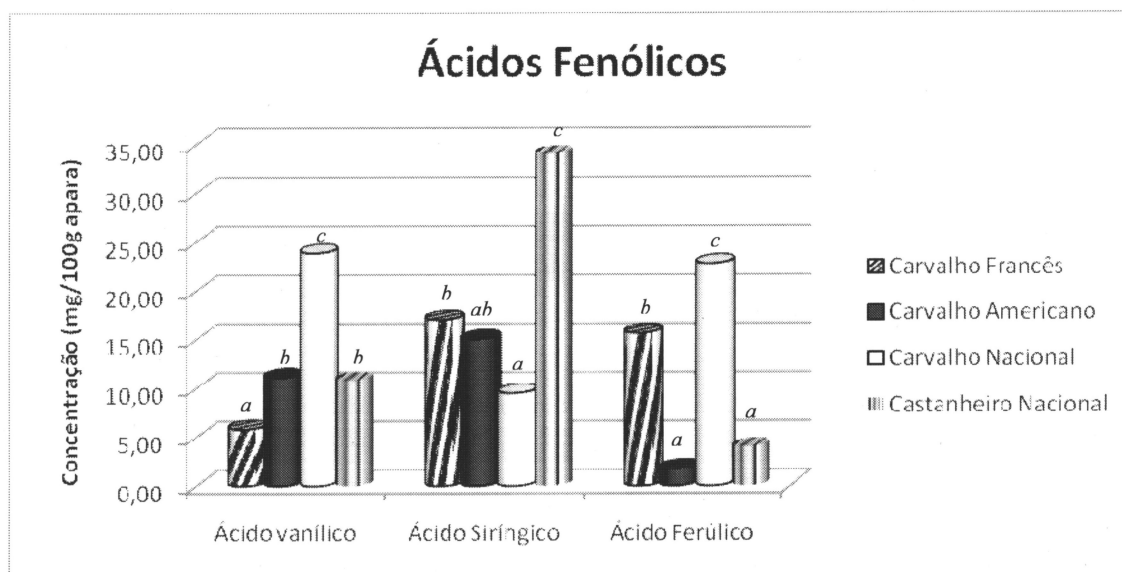


Figura nº 11: Concentração (mg/100g de apara) em ácido vanílico, ácido siríntrico e ácido ferúlico nas diferentes espécies botânicas em estudo. Em cada composto, letras diferentes significam diferenças significativas entre as espécies botânicas, para  $p < 0,05$ .

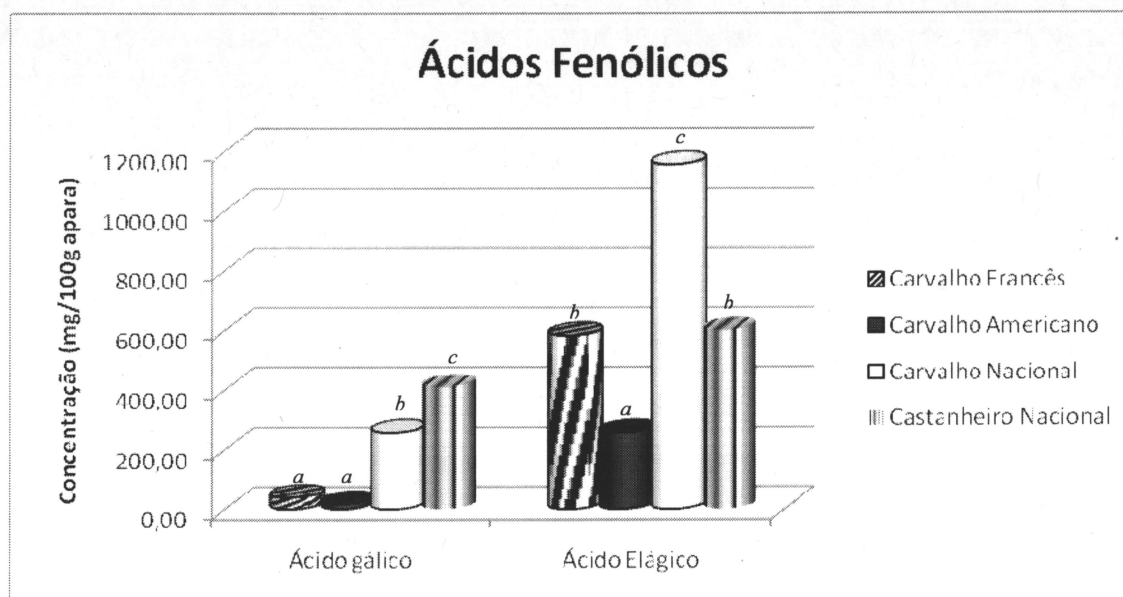


Figura nº 12: Concentração (mg/100g de apara) em ácido gálico e ácido elágico nas diferentes espécies botânicas em estudo. Em cada composto, letras diferentes significam diferenças significativas entre as espécies botânicas, para  $p < 0,05$ .

Observando a Figura nº 12 destaca-se a maior riqueza em ácido elágico do que em ácido gálico para todas as espécies. O carvalho Americano aparenta ser a espécie botânica com teores mais baixos nestes compostos. Canas *et al.* (2000), com madeiras de carvalho e castanheiro não tostadas, encontraram valores de ácido elágico superior nas madeiras de carvalho e dominância de ácido gálico na de castanheiro. Se para as madeiras de carvalho a concordância com os nossos resultados é evidente, já para a madeira de castanheiro tal não se verifica. Os nossos resultados apontam para uma maior semelhança entre os teores nestes dois ácidos, com predominância do ácido elágico, no caso do castanheiro. Porém não nos podemos esquecer do efeito da tosta no teor destes compostos.

Resultados obtidos por Vivas *et al.* (1996c) indicam os ácidos gálico e elágico como os principais compostos de baixo peso molecular das madeiras de carvalho. Em vários estudos (Viriot *et al.*, 1994; Simón *et al.*, 1997; Vivas, *et al.*, 1996c) foi constatado que o ácido elágico foi o mais abundante, embora este dado contrarie as observações de Delgado e Gomez-Cordovés (1987), de Rabier e Moutounet (1991) e de Gimenez-Martinez *et al.* (1996) que afirmam que o ácido gálico é o composto mais abundante nas madeiras de carvalho.

Na literatura encontram-se estudos onde são comparados castanheiros e carvalhos, os quais afirmam que a madeira de castanheiro apresenta uma quantidade superior de

biopolímeros, nomeadamente a celulose (Fengel & Wegner (1989), um maior teor total de compostos fenólicos de baixo peso molecular (Canas *et al.*, 2000) e em taninos hidrolisáveis (Salagoity-Auguste *et al.*, 1992; Viriot *et al.*, 1994). Relativamente ao último estudo referido, podemos dizer que os nossos resultados estão em concordância quando comparamos o castanheiro e os carvalhos de origem Francesa e Americana, no sentido em que a soma dos ácidos fenólicos que têm origem nos taninos hidrolisáveis, ácido gálico e ácido elágico, é efectivamente maior no castanheiro Nacional. A excepção está nos teores apresentados no carvalho Português, visto que se aproximam mais do castanheiro do que dos restantes carvalhos.

Chatonnet e Dubourdieu (1998) ao compararem o carvalho Francês com o carvalho Americano nos seus teores em taninos extraíveis, afirmam que a espécie botânica de origem Francesa tem teores mais elevados que a espécie botânica de origem Americana. Os resultados que obtivemos nestas duas espécies, estão em concordância com os autores referidos.

Na Figura nº 13 estão representados os teores encontrados para os aldeídos furânicos nas diferentes amostras em estudo. Observando os resultados verifica-se que as amostras de carvalho apresentam teores crescentes de 5-metilfurfural, furfural e 5-hidroximetilfurfural, enquanto que a madeira de castanheiro apresenta teores muito iguais nestes três compostos. A madeira de carvalho Nacional é a que apresenta os teores mais elevados.

Não encontramos na literatura referências aos teores em aldeídos furânicos relativos às espécies Nacionais, por isso salienta-se a homogeneidade de valores encontrados no castanheiro, em contraste com os encontrados para o carvalho Nacional, que se destaca pela riqueza em 5-hidroximetilfurfural.

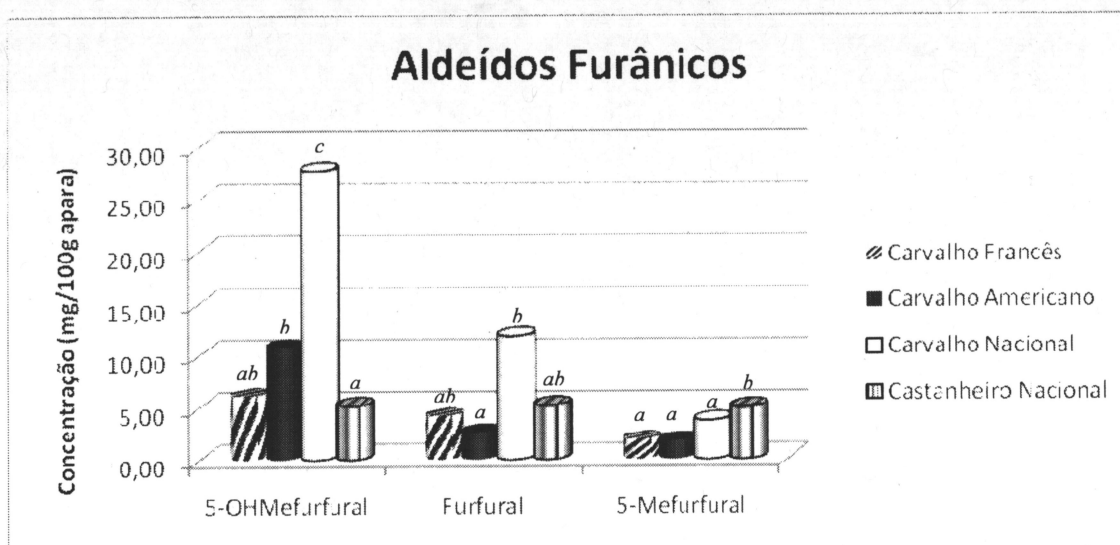


Figura nº 13: Concentração (mg/100g de apara) em 5-hidroximetilfurfural, furfural e 5-metilfurfural nas diferentes espécies botânicas em estudo. Em cada composto, letras diferentes significam diferenças significativas entre as espécies botânicas, para  $p < 0,05$ .

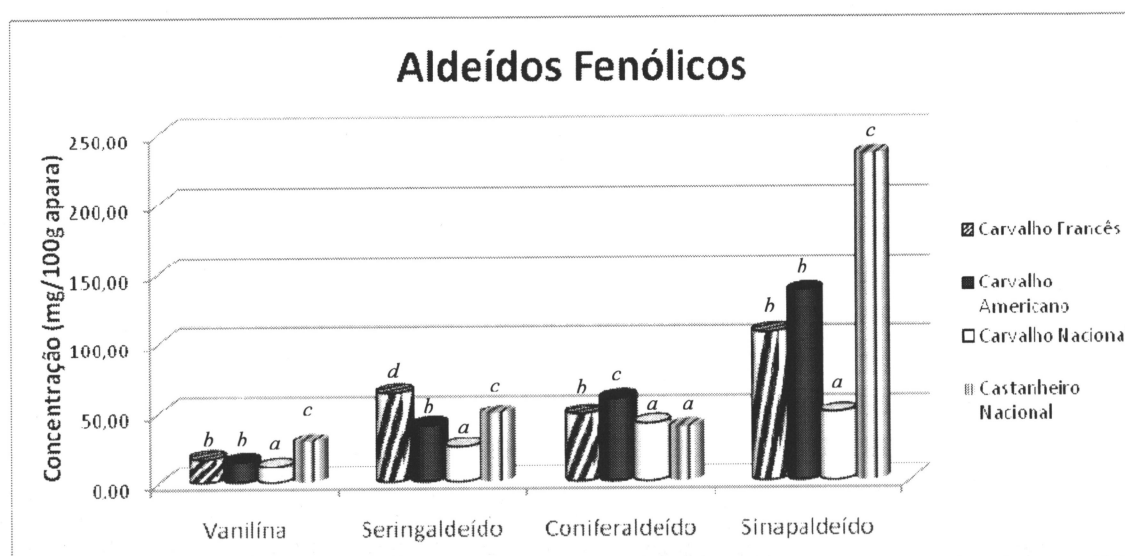


Figura nº 14: Concentração (mg/100g de apara) em vanilina, seringaldeído, coniferaldeído e sinapaldeído nas diferentes espécies botânicas em estudo. Em cada composto, letras diferentes significam diferenças significativas entre as espécies botânicas, para  $p < 0,05$ .

Da observação da Figura nº 14 verifica-se que em todas as madeiras é o sinapaldeído o composto que apresenta maiores concentrações, e a vanilina é o aldeído fenólico que aparece em menores concentrações.

Canas & Caldeira (2009) obtiveram resultados que demonstram a existência de diferenças muito significativas nos teores de aldeídos fenólicos, em que as madeiras de

carvalho formam um grupo homogéneo, com teores muito inferiores de vanilina e de sinapaldeído do que a madeira de castanheiro, o que confirma os nossos resultados.

Globalmente, do estudo da composição fenólica destas quatro espécies botânicas, podemos referir que foi o carvalho Nacional que apresentou os teores mais elevados no total dos compostos fenólicos (1640 mg/100g de aparas); apenas apresenta teores totais mais baixos no conjunto dos aldeídos fenólicos (126 mg/100g de aparas). O castanheiro Nacional apresentou teores totais (1426 mg/100g de aparas) ligeiramente inferiores aos encontrados para o carvalho Nacional, mas foi a espécie botânica onde foram encontrados os teores totais mais altos de aldeídos fenólicos (351 mg/100g de aparas). O carvalho Americano foi a espécie botânica que apresentou o menor teor total em compostos fenólicos de baixo peso molecular (569 mg/100g de aparas), embora os teores totais nas diferentes famílias de compostos sejam mais semelhantes aos do carvalho Francês do que aos do carvalho Nacional.

#### 4. CONCLUSÃO

Apesar do reduzido número de amostras em estudo, foi possível tirar algumas conclusões com o trabalho efectuado.

Em relação à metodologia, a extracção com líquido pressurizado (PLE) revelou ser um método eficiente para a extracção dos compostos fenólicos presentes nas aparas de madeira em estudo.

O trabalho desenvolvido permitiu a quantificação por HPLC, recorrendo ao método do padrão interno, da composição fenólica de diferentes espécies de madeira (castanheiro Nacional e carvalho Francês, Americano e Nacional do Gerês) submetidas a diversos tipos de tratamento térmico.

Relativamente ao efeito do nível de tosta sobre os compostos fenólicos de baixo peso molecular, em aparas de carvalho francês, podemos concluir que:

- o nível de tosta tem influência no teor em compostos fenólicos das aparas de madeira, verificando-se um aumento de concentração nos teores totais no sentido do acréscimo da intensidade da tosta.
- são as aparas sem tosta aquelas que apresentam menores teores em compostos fenólicos, à excepção do ácido vanílico que apresenta o valor mais elevado, quer nas aparas quer no pó não sujeitos a tosta.
- os compostos fenólicos estudados que mais evidenciam esta tendência, aumentando a concentração no mesmo sentido do aumento da tosta, são: o ácido sirínico, os aldeídos furânicos 5-hidroximetilfurfural e o furfural, a vanilina, o coniferaldeído e o sinapaldeído.
- apesar de os níveis de tosta não serem iguais entre as amostras de carvalho Francês em aparas e em pó, parece que o tamanho do fragmento da madeira, influencia o teor em compostos fenólicos e o comportamento de alguns deles face à intensidade da tosta. A composição das aparas não é de todo igual à composição do pó, o que reforça a ideia de que são produtos com aplicabilidade diferente.

No estudo da composição fenólica das diferentes espécies botânicas de aparas com tosta média, verifica-se que o carvalho Nacional apresenta teores elevados em compostos fenólicos sendo o carvalho Americano aquele em que os teores são menores. Porém, o perfil fenólico das três espécies de carvalho em estudo é semelhante.

Quanto ao castanheiro Nacional o perfil fenólico parece ser diferente, principalmente devido aos elevados teores em ácido sirínico e sinapaldeído, mas sobretudo por apresentar teores muito semelhantes entre os três aldeídos furânicos e entre o ácido

gálico e o ácido elágico. Esta foi também a espécie botânica que apresentou os valores mais elevados em aldeídos fenólicos.

As espécies botânicas Nacionais destacaram-se pelos elevados teores em compostos fenólicos totais devido, sobretudo, ao seu teor em ácidos fenólicos.



## 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Artajona J., 1991. Caracterisation del roble según su origen y grado de tostado, mediante la utilizacion de GC y HPLC. *Viticultura/Enologia Profesional*, **14**, 61-72.
- Aquino, F. W. B.; Smith, A. C. (2004) Determinação de compostos fenólicos em extractos de *Amburana cerearensis* (Fr. All) e em aguardente de cana envelhecida no Ceará. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos), Universidade Federal do Ceará, Fortaleza.
- Barbe J.-C., Ferreira A. C. S., Bertrand A. (1998). Dosage de dérivés furaniques et pyraniques issus du bois de chêne. *J. Sci. Tech. Tonnellerie*, **4**, 99-105.
- Berrocal del Brio, M.; Lancho, J.F. G.; Herrero, J.M. C. (1998) El Castaño. Ediciones Mundi-prensa. Madrid, 288.
- Belchior, A. P. (1995) Tecnologia de utilização de madeiras no envelhecimento de aguardentes e vinhos, **77**, EVN-INIA.
- Belchior, A.P.; Caldeira, I.; Costa, S.; Lopes, C.; Tralhao, G.; Ferrao, A.F.M.; Mateus, A.M. (2001) *Ciencia Tec. Vitiv.*, **16**, 81-94.
- Black, R. A.; Rosen, A. A.; Adams, S. L. (1953) The chromatographic separation of hardwood extractives components giving color reaction with phoroglucinol. *J. Am. Chem. Soc.*, **75**, 713-716.
- Boindron J. N.; Chatonnet P.; Pons M. (1988) Influence du bois sur certains substances odorants des vins. *Conn. Vigne Vin*, **22**, 275-294.
- Bravo, M.N., Silva, S., Coelho, A.V., Vilas Boas, L., Bronze. M.R. (2006) Analysis of phenolic compounds in Muscatel wines produced in Portugal, *Analytica Chimica Acta*, **563**: 84-92.
- Bravo, L. (1998) Polyphenols: chemistry, dietary sources metabolism and nutrition significance. *Nutrition Reviews*, New York, **56** (11): 317-333.
- Cabrita, M.J.; Ana Costa Freitas; Raquel Garcia. Sample preparation methods for quantification of phenolic compounds from oak chips for oenological use. 34th International Symposium on Capillary Chromatography. Riva del Garda, Italy. May 30 - June 4 (2010)
- Campos, L. S. (1987) Guia dos compostos orgânicos e bioquímicos. Coleção Universidades, 507, Europress, Editores e Distribuidores de Publicações, Lda. Odivelas.
- Campos, J.O. S.; Aquino, F. W. B.; Nascimento, R. F.; Costa, J. G. M.; Keukeleire, D.; Casimiro, A. R. S. (2004) Influence and effect of thermal treatment in elaboration of regional extracts for cachaça. *Journal of Food Composition and Analysis*, **17**, 179-185.
- Canas, S.; Belchior, A. P.; Spranger, M. I.; Bruno-de-Sousa, R. (2003) High performance liquid chromatography method for analysis of phenolic acids, phenolic aldehydes, and furanic derivatives in brandies. Development and validation. *Journal of Separation Science*, **26**, 496-502.
- Canas, S., Caldeira, I. (2004) A madeira no envelhecimento de aguardentes e vinhos, *EVN*.
- Canas S.; Leandro, M. C.; Spranger, M. I.; Belchior, A. P. (2000) Influence of botanical species and geographical origin on the content of low molecular weight phenolic compounds of woods used in Portuguese cooperage. *Holz-forschung*, **54**, 255-261.
- Canas S., Grazina N., Spranger M.I., Belchior A.P., Bruno-de-Sousa R. (2000). Modelisation of heat treatment of Portuguese oak wood (*Quercus pyrenaica* L.). Analysis of the behaviour of low molecular weight phenolic compounds. *Ciência. Tec. Vitiv.*, **15** (2), 75-94.

- Carvalho, A. (1996) Madeiras Portuguesas. Estrutura anatómica, propriedades, utilizações. Vol I, 340 pp. Instituto Florestal, Lisboa.
- Carvalho, A. (1997) Madeiras Portuguesas. Estruturas anatómicas. Propriedades. Utilizações. Vol II, 415 pp. Instituto Florestal. Lisboa.
- Carvalho, A. (1998) Identificação anatómica e caracterização física e mecânica das madeiras utilizadas no fabrico de quartolas para produção de aguardentes velhas de qualidade - denominação Lourinhã. *Ciência Tec. Vitiv.*, **13**, 71-105.
- Chatonnet, P. (1995) Influence des procédés de tonnellerie et des conditios d'élevage sur la composition et la qualité des vins élevés en fûts de chêne. 268 pp. *Thèse doctorat del'Université de Bordeaux II*. Institut d'œnologie.
- Chatonnet, P. (1995a) – Le séchage et la maturation des bois en tonnellerie. *R. F. Oenolog.* **151**, 33-38.
- Chatonnet, P. (1995b) – Influence des procédés de tonnellerie et des conditions d'élevage sur la composition et la qualité des vins élèves en fûts de chêne, Tesis doctoral, Universidad de Burdeos II.
- Chatonnet, P.; Boidron, J.N. (1989) Incidence du traitement thermique du bois de chêne sur sa composition chimique. 1<sup>ère</sup> partie: Définition des paramètres thermiques de la chauffe des fûts en tonnellerie. *Conn. Vigne Vin*, **23**, 77-87.
- Chatonnet, P., Boinbron J.N., Dubourdieu D. (1993) – Maitrise de la chauffe de brûlage en tonnellerie. Application à la vinification et à l'élevage des vins en barriques. *Rev. Fr. Oenol.*, **144**, 41-53.
- Chatonnet, P., Dubourdieu D. (1998a) Comparative study of the characteristics of American white oak (*Quercus alba*) and European oak (*Quercus petraea* and *Quercus robur*) for production of barrel aging wines. *Am. J. Enol. Vit.*, **49**: 79-85.
- Chatonnet P. (1999). Discrimination and control of toasting intensity and quality of oak wood barrels. *Am. J. Enol. Vit.*, **50**, 479-494. Chatonnet P., Boindron J. N. (1989). Incidence du traitement thermique du bois de chêne sur sa composition chimique. 1ere partie: Définition des paramètres thermiques de la chauffe des fûts en tonnellerie. *Conn. Vigne Vin*, **23**, 77-87.
- Clímaco M. C.; Belchior, A P.; Spranger Garcia, M. I. (1985) Contribuição para o estudo do envelhecimento do vinho tinto em madeira de carvalho e de castanheiro. *Ciênc. Tec. Vitiv.*, **4**, 57-68.
- Coutinho A. X. P. (1913) A Flora de Portugal. Aillaud Alves &C°, Livraria Bertrand, Lisboa.
- Cutzach, I.; Chatonnet, P.; Henry R.; Dubourdieu, D. (1997) Identification of volatile compounds with a "toasty" aroma in heated oak used in barrelmaking. *Journal of Agriculture Food Chemistry*, **45**, 2217-2224.
- DE Coninck, G., Jordão, A.M., Ricardo da Silva, J.M., Laureano, O. (2006) Evolution of phenolic composition and sensory properties in red wine aged in contact with Portuguese and French oak wood chips. *J. Int. Sci. Vigne Vin*, **40**: 25-34.
- Delgado, T. ; Gomez-Cordoves, C. (1987) Teneur des brandies commerciaux espagnols en aldéydes et en acides phénoliques. *R. F. Oenol.*, **107** (cahier scientifique), 39-43.
- Díaz-Plaza, E.M., Reyero, J.R., Pardo, Salinas, F. (2002) Comparison of wine aromas with tannic content aged in French oak barrels. *Anal. Chim. Acta*, **458**: 139-145.
- Doussot F., Pardon P., Dedier J., De Jeso J. (2000) Species and geographic origin influence on cooperage oak extractible content (*Quercus robur* L. and *Quercus petraea* Liebl.) *Analisis*, **28**: 960-965.

- Dubois, P. (1989) Apports du fût de chêne neuf à l'arôme des vins, *R.F. Oenol.*, **120**: 19-24.
- Fengel, D., Wegner, G. (1989) Wood. Chemistry, Ultrastructure, Reactions. 612, Walter de Gruyter (Ed.), Berlin.
- Ferguson, L.R., Harris, P.J. (1999) Protection against cancer by wheat bran: role of dietary fibre and phytochemicals. *European Journal of Cancer Prevention*, Oxford, **8** (1): 17-25.
- Feuillat, F.; Keller, R. (1997) Variability of oak wood (*Quercus robur* L., *Quercus petraea* Liebl.). Anatomy relating to cask properties. *Am. J. Enol. Vit.*, **48**, 502-508.
- Feuillat F., Keller R., Sauvageot F., Puech J.-L. (1999) Characterization of French oak cooperage (*Quercus robur* L., *Quercus petraea* Liebl.). Research of the study group on barrel-aging burgundy wines. *Am. J. Enol. Vit.*, **50**: 513-518.
- Francis, I. L.; Sefton, M. A.; Williams, P. J. (1992) A study by sensory descriptive analysis of the effects of oak origin, seasoning, and heating on the aromas of oak model wine extracts. *Am. Journal Enol. Vitic.* **43** (1), 23-30.
- Franco J. A. (1971) – Nova Flora de Portugal. Lisboa, 648.
- Gimenez-Martinez, R.; Garcia De la Serrana, H. L.; Villalon, M. M.; Quesada Granados J.; López Martinez, M. C. (1996) Influence of wood heat treatment, temperature and maceration time on vanillin, syringaldehyde, and gallic acid contents in oak wood and wine spirit mixtures. *Am. J. Enol. Vit.*, **47**, 441-446.
- Guymon, J. F.; Crowell, E. A. (1970) Brandy aging: Some comparisons of American and French oak cooperage. *Wines e vines*, 23-25.
- Hale M. D., McCafferty K., Larmie E., Newton J., Swan J. S. (1999). The influence of oak seasoning and toasting parameters on the composition and quality of wine. *Am. J. Enol. Vit.*, **50**, 495-502.
- Haluk, J. P.; Irmouli, M. (1998) The fixed polymer constituents in cooperage oak: cellulose, hemicelluloses and lignin. *J. Sci. Tonn.*, **4**, 43-82.
- Helm R.F., Ranatunga T.D., Chandra M. (1997) Lignin-hydrolyzable tannin interactions in wood. *J. Agric. Food Chem.*, **45**, 3100-3106.
- Hillis, W. E. (1984) High temperature and chemical effects on wood stability. *Wood Scin. Technol.*, **18**, 281-293.
- Joseph, E. ; Marché, M. (1972) Contribution à l'étude du vieillissement du Cognac. Identification de la scopolétine, de laesculétine, de l'ombelliférone, de la  $\beta$ -méthyl-ombelliférone, de laesculine et de la scopoline, hétérosides provenant du bois. *Conn. Vigne Vin*, **6**, 1-58.
- Keller, R. (1987) Différences variétés de chênes et leur repartition dans le monde. *Conn. Vigne Vin*, **21**, 191-229.
- Kerry, N. L., Abbey, M. (1997) Red wine and fractionated phenolic compounds prepared from red wine inhibit low density lipoprotein oxidation *in vitro*. *Atherosclerosis*, Limerick, **135** (1): 93-102.
- Kleinschmit, J. (1993) Intraspecific variation of growth and adaptive traits in European oak species. *Ann. Scin. For.*, **50**, 166-185.
- Krisper, P.; Tisler, V.; Skubic, V.; Rupnik, I.; Kogal, S. (1992) The use of tannins from chesnut (*Castanea sativa*). In: Plant polyphenols, Hemingway R.W., Laks P. E. (Eds), Plenum Press, New York, 1013-1019.

Maga, J.A (1989) The contribution of wood flavor of alcoholic beverages. *Food Reviews International*, Philadelphia, **5**, 39-99.

Marché, M.; Joseph, E. (1975) Étude théorique sur le cognac, sa composition et son vieillissement naturel en fûts de chêne Station. Cognac-Fr. Lyceé Viticole de Cognac, 108.

Marco J., Artajona J., Larremi M. S., Rius F. X. (1994). Relationship between geographical origin and chemical composition of wood for oak barrels. *Am. J. Enol. Vit.*, **45**, 192-200.

Monedero, L., Olalla, M., Villalón, M., López-García, H., López M. C. (2000) *Food Chem.*, **69**: 47.

Masson, G.; Puech, J.L.; Moutounet, M. (1996) Composition chimique du bois de chêne de tonnellerie. *Bull. OIV*, 785-786, 634-657.

Matricardi, L.; Waterhouse, A. (1999) Influence of toasting technique on color and ellagitannins of oak wood in barrel making. *Am. J. Enol. Vit.*, **50**, 519-526.

Melo, J.R. (1999) Secagem de madeiras. Teoria e prática de secagem artificial de madeiras. 382 Estação florestal Nacional, Lisboa.

Miller D.P., Howell G.S., Michaelis C. S., Dickmann D.I. (1992) The content of phenolic acid and aldehyde flavour components of white oak as affected by site and species. *Am. J. Enol. Vit.*, **43**: 333-338.

Monties, B. (1987) Composition chimique des bois de chêne: composés phénoliques, relations avec quelques propriétés physiques et chimiques susceptibles d'influencer la qualité des vins et des eaux-de-vie. *Conn. Vigne Vin*, **22**:169-190.

Monties, B. (1992) Composition chimique des bois de chêne: composés phénoliques, relations avec quelques propriétés physiques et chimiques susceptibles d'influencer la qualité de vins et des eaux-de-vie. *Vigne et Vin publ. Intern.*, 59-72.

Mosedale J.R. (1995) Effect of oak wood on the maturation of alcoholic beverage with particular reference to whisky. *Forestry*, **68**: 203-230.

Mosedale J.R., Savill P.S. (1996) Variation of heartwood phenolics and oak lactones between the species and phonological types of *Quercus petraea* and *Q. robur*. *Forestry*, **69**: 47-55.

Mosedale J.R., Charrier B., Janin G. (1996b) Genetic control of wood colour, density and heartwood ellagitannin concentration in European oak (*Quercus petraea* and *Quercus robur*). *Forestry*, **69**: 111-124.

Mosedale, J. R.; Puech, J.L.; Feuillat F. (1999) The influence on wine flavor of the oak species and natural variation of heartwood components. *Am. J. Enol. Vit.*, **50**, 503-512.

Moutounet, M., Puech, J.-L., Keller, R., Feuillat, F. (1999) Les caractéristiques du bois de chêne en relation avec son utilisation en œnologie. Le phénomène de duramisation et ses conséquences. *R.F. Oenol.*, **174**: 12-17.

Navarre, C., (1997) *Enologia – Técnicas de Produção do Vinho*, Tradução Mário B. Ripado, Publicações Europa – América, Lisboa.

Nobre da Veiga, J. C. (1954) Tanoaria e Vasilhame. *Colecção A terra e o Homem*, Livraria Sá da Costa, Lisboa, **28**, 259.

Pavia, J. (2001) A Quercus e os Quercus. *Floresta e ambiente*, **53**, 13-14.

Pearl, I.A.; Beyer, D.L.; Johnson, B.; Wilkinson, S. (1957) Alkaline hydrolysis of representative hardwoods. *Tappi*, **40**: 374-378.

Peng S., Scalbert A., Monties B. (1991). Insoluble ellagitannins in *Castanea sativa* and *Quercus petraea* woods. *Phytochem.*, **30**, 775-778.

Pereira, R. J.C.F. (1998) Envelhecimento de Aguardentes. Influência do tipo de madeira e tosta na composição volátil. Relatório final de curso de bacharelato em Biotecnologia. Instituto Superior de Humanidades e Tecnologias.

Pérez-Coello, M.S., Sanz, J., & Cabezudo, M.D. (1999) Determination of volatile compounds in hidroalcoholic extracts of French and American oak wood. *American Journal of Enology and Viticulture*, **50**: 162-165.

Piracci A., Bucelli P., Faviere V., Giannetti F., Scalzo R., Novello E. (2001) *L'Oenologo* **10**: 103.

Polge, H.; Keller, R. (1973) Qualité du bois et largeur d'accroissements en forêt de Tronçais. *Ann. Scin. For.*, **30**, 91-125.

Pollnitz A. P., Jones G. P., Sefton M. A. (1999) *J. Chromatogr. A*. **857**: 236.

Pontalier, P. (1981) Recherches sur les conditions d'élevage des vins rouges. Rôle des phénomènes oxydatifs. Thèse docteur-ingénieur, Université de Bordeaux II.

Pontailier, P.; Salagoity, M. H.; Ribéreau-Gayon, P. (1982) Intervention du bois de chêne dans l'élevage des vins rouges. *Conn. Vigne Vin* **16**, 45-61.

Puech, J.L. (1984) Characteristics of wood and biochemical aspects of Argamac aging. *Am. J. Enol. Vit.*, **35**, 77-81.

Puech, J. L. (1981) Extraction and evolution of lignin products in Armagnac matured in oak. *Am. J. Enol. Vit.*, **32**, 111-114.

Puech, J. L.; (1978) Vieillessement des eaux-de-vie en fûts de chêne. extraction et évolution de la lignine et des ses produits de dégradation. Thèse doctorat de l'Université Paul Sabatier de Toulouse, 68.

Puech, J.L.; Sarni, F. (1990) Delignification of oak wood with an ethanol-water solution in a flow through reactor. *Holzforschung*, **44**, 367-371.

Quinn, M.K.; Singleton, V. (1985) Isolation and identification of elagitannis from white oak wood and estimation of their roles in wine. *Am. J. Enol. Vit.*, **36**: 148-155.

Rabier, P. H.; Moutounet, M. (1991) Evolution d'extractibles de bois de chêne dans une eau-de-vie de vin. Incidence du thermotraitement des barriques. In: *Flavour of distilled beverages : origin and development*, Piggott, J. R. (Ed), Lavoisier TEC & DOC, Paris, **19**, 225-240.

Reazin G. H. (1983) – Chemical mechanisms of whiskey maturation. *Am. J. Enol. Vit.*, **32**, 283-289.

Ribéreau-Gayon, J. (1931) Contribution à l'étude des oxidations et reductions dans les vins., Bordeaux, 213.

Ribéreau-Gayon, P. (1968) *Les composes phénoliques totaux des végétaux*. pp.254, Dunod, Paris.

Ribéreau-Gayon, J., Peynaud, E., Ribéreau-Gayon, P., Sudraud, P. (1976) *Traité d'œnologie. Sciences et techniques du vin*, 719, Dunod, Paris.

Rogers, B. (2002) *Aus. New. Zel Grapegrower Win.* **462**, 51.

Salagoity-Auguste, M. H., Tricard, C., Marsal, F., Sudraud, P. (1986) Preliminary investigation for the differentiation of enological tannins according to botanical origin: determination of gallic acid and its derivatives. *Am. J. Enol. Vit.*, **37**, 301-303.

Sarni, F.; Moutounet, M.; Puech, J. L.; Rabier, P. H. (1990a) Effect of heat treatment of oak wood extractable compounds. *Holzforschung*, **44**, 461-466.

Sarni, F.; Rabier, P. H., Moutounet M. (1990b) Fabrication des barriques et thermotraitements : relevé des températures. *R. F. Oenol.*, **123**, 53-58.

Scalbert, A.; Duval, L.; Monties, B.; Favre, J.M. (1988) Polyphenols du *Quercus robur* L. :tannins ellagiques d'arbre adulte, cals et microplants. *Bull. Liasion Groupe Polyphenols*, **14**, 262-265.

Scalbert, A., Monties, B., Dupouey, J.L., Becker, M. (1986) Polyphenols extractibles du bois de chêne: variabilité interspécifique, interindividuelle et effet de la duraminisation. *Bull. Liasion Groupe polyphenols*, **13**, 615-619.

Scalbert, A., Peng, S., Monties, B., Herve Du Penhoat, C., Gage D. (1990b) Isolation and structural characterisation of polyphenols from *Quercus robur* L. and *Quercus petraea* Liebl. Woods. *Bull. Liasion Groupe Polyphenols*, 203-206.

Schahinger G. (1992) – Oak –the worldwide situation. *Aust. Grap. Winemaker*, **343**, 19-20.

Seikel, M.K.; Hostettler, F.D.; Niemenn, G. J. (1971) Phenolics of *Quercus rubra* wood. *Phytochemistry*, Oxford, v. **10**, p.2249-2251.

Simon, B. F.; Conde, E.; Cadahia, E.; Garcia-Vallejo, M. C. (1997) Les composés phénoliques de faible poids moléculaire dans les bois de chêne espagnol, français et américain. *J. Sci. Tech. Tonnellerie*, **2**, 1-11.

Singlenton, V. L. (1974) Some aspects of wooden container as a factor in wine maturation. Chemistry of wine making. 311 pp. ACS series n° **137**, Webb. A. D. (Ed.), ACS Pub. Co, New York.

Singlenton, V. L. (1995) Maturation of wines and spirits: comparisons, facts, and hypotheses. *American Journal of Enology and Viticulture*, Davis, **46**, n.1, 98-115.

Soares, S. E (2002) Ácidos fenólicos como antioxidantes, *Rev. Nutr.*, **15** (1): 71-81, Campinas, jan./abr.

Spillman P. J., Pollnitz A. P., Liacopoulos D., Skouroumounis G. K., Sefton M. A. (1997). Accumulation of vanillin during barrel-aging of white, red, and model wines. *J. Agr. Food Chem.*, **45**, 2584-2589.

Stutz, T., Lin, S., & Herdman, I. (1999) Barrel Renewal Systems-A user's perspective. Presented at International Symposium on Oak in Winemaking. *American Journal of Enology and Viticulture*, **50**: 541-543.

Taransaud J. (1976) – Le livre de la tonnellerie. Paris.

Tutin, T. G.; Burges, N. A.; Chater, A. O.; Edmondson, J. R.; Heywood, V. H.; Moore D. M.; Valentine, D. H.; Walters, S. M.; Webb, D. A. (1993) *Flora Europaea* 1 (2<sup>nd</sup> Edition). Cambridge University Press, Cambridge.

Tutin, T. G.; Heywood, V. H.; Burges, N. A.; Valentine, D. H.; Walters, S. M., Webb, D. A. (1964) *Flora Europaea* 1. Cambridge University Press, Cambridge.

Valls, J., Lampreave, M., Nadal, M., Arola, L. (2000) Alimentación, Equipos y tecnología, **3**, 119.

Vichi, S.; Santini, C.; Natali, N.; Riponi, C.; López-Tamames, E.; Buxaderas, S. (2007) Volatile and semi-volatile components of oak wood chips analysed by Accelerated Solvent Extraction (ASE) coupled to gas chromatography–mass spectrometry (GC–MS), *Food chemistry*, **102**, 1260-1269.

Viriot, C., Scalbert, A., Hervé du Penhoat, C.L.M., Moutounet, M. (1994) Ellagitannins in wood of sessile oak and sweet chestnut. Dimerization and hydrolysis during wood aging. *Phytochem.*, **36**: 1253-1260.

Viriot C., Scalbert A., Lapierre C., Moutounet M. (1993). Ellagitannins and lignins in aging of spirits in oak barrels. *J. Agr. Food Chem.*, **41**, 1872-1879.

Vivas, N. (1997) Composition et propriétés des préparation commerciales de tannins à usage œnologique. *Rev. Enol.*, **23**, 15-21.

Vivas, N. (1995a) La qualité du bois de chêne et son utilisation pour la vinification et l'élevage des vins. *Journal Science Tech. Tonnellerie*, **1**, 1-8.

Vivas, N. (1993b) Les phénomènes liés à la maturation du bois de chêne pendant son séchage. *Revue des Œnologues, Lattes*, n.70, p.17-21.

Vivas, N.; Bourgeois, G.; Boissel, I.P.; Absalon, C.; Vitry, C. (1999) Recherches sur les lignines du duramen de *Q. robur* L. et *Q. petraea* Liebl. Identification dans les vins d'une fraction lignines solubilisées au cours de l'élevage en barriques. *J. Sci. Tech. Tonnellerie*, **5**, 1-15.

Vivas, N., Bourgeois G., Vitry C., Glories Y., Freitas V. (1996a) Determination of the composition of commercial tannin extracts by liquid secondary ion mass spectrometry (LSIMS). *J. Sci. Foos Agric.*, **72**: 309-317.

Vivas, N.; Pianet, I.; Bourgeois, G.; Vitry, C.; Servens, C.; Glories, Y. (1998) Characterization of heartwood lignin fractions from *Quercus robur* L. and *Quercus petraea* (Matt) Liebl., the main oak species used for barrel making. *Am. J. Enol. Vit.*, **49**, 49-55.

Vivas, N.; Glories, Y.; Bourgeois, G.; Vitry C. (1996C) Les ellagitannins de bois de cœur de différentes espèces de chêne (*Quercus sp.*) et de châtaignier (*Castanea sativa* Mill.). Dosage dans les vins rouges élevés en barriques. *J. Sci. Tech. Tonnellerie*, **2**, 25-49.

## ANEXO I

Tabela nº 6: Concentração (mg/100g de apara) dos compostos fenólicos em aparas de carvalho Francês nº3 nas diferentes tostas em estudo.

Composto	Intensidade da tosta											
	Não tostada			Ligeira			Média					
	[ ]	±	D.P.	[ ]	±	D.P.	[ ]	±	D.P.	[ ]	±	D.P.
Ácido gálico	20,06 a	±	4,56	43,92 b	±	4,29	39,56 b	±	5,43	36,29 b	±	5,28
5-OHMefurfural	5,73 a	±	3,01	7,99 ab	±	1,29	6,13 a	±	0,29	12,66 b	±	3,36
Furfural	7,18 a	±	1,31	14,36 b	±	2,40	4,16 a	±	1,25	28,62 c	±	4,80
Ácido vanílico	30,76 b	±	6,95	4,94 a	±	2,57	5,82 a	±	2,68	9,55 a	±	2,12
5-Mefurfural	0,61 b	±	0,04	2,83 d	±	0,77	1,91 c	±	0,24	1,20 b	±	0,23
Ácido siríntrico	n.d.			10,02 a	±	2,00	17,04 a	±	0,87	46,83 b	±	9,73
Vanilina	n.d.			12,86 a	±	1,21	16,77 b	±	1,20	24,76 c	±	2,46
Seringaldeído	50,53 a	±	4,36	72,21 b	±	12,42	63,47 a	±	4,00	75,28 b	±	8,71
Ácido ferúlico	1,94 a	±	1,39	5,59 b	±	1,12	15,65 c	±	1,78	5,47 b	±	0,56
Coniferaldeído	1,18 a	±	0,12	27,07 b	±	2,28	48,26 c	±	6,54	82,25 d	±	5,97
Sinapaldeído	5,90 a	±	1,16	50,41 b	±	3,99	106,39 c	±	13,88	287,91 d	±	15,46
Ácido elágico	472,89 a	±	66,29	617,50 a	±	48,86	582,84 a	±	25,87	602,72 a	±	113,94
<b>TOTAIS</b>	<b>64,33</b>			<b>869,71</b>			<b>907,99</b>			<b>1213,52</b>		

[ ] – concentração do composto em mg/100g de apara; D.P. – desvio padrão; n.d. – não detectado; ; a, b, c, d – letras diferentes, em cada linha, representam diferenças significativas a  $p < 0,05$ .

Tabela nº 7: Concentração (mg/100g de apara) dos compostos fenólicos em pó de carvalho Francês nº3 nas diferentes tostas em estudo.

Composto	Intensidade da tosta								
	Pó Não tostado			Pó Tosta média			Pó Tosta média +		
	[ ]	±	D.P.	[ ]	±	D.P.	[ ]	±	D.P.
Ácido gálico	42,05 a	±	14,52	42,52 a	±	0,28	34,48 a	±	4,09
5-OHMefurfural	5,75 a	±	1,25	22,67 b	±	4,35	24,88 b	±	2,97
Furfural	1,86 a	±	1,26	7,44 b	±	1,21	14,98 c	±	1,65
Ácido vanílico	99,41 b	±	24,15	18,24 a	±	6,55	9,22 a	±	1,60
5-Mefurfural	n.d.			12,53	±	4,73	n.d.		
Ácido Siríntrico	0,11 a	±	0,03	n.d.			5,95 b	±	3,95
Vanilina	1,13 a	±	0,09	n.d.			23,71 b	±	2,48
Seringaldeído	n.d.			50,75	±	4,54	n.d.		
Ácido Ferúlico	2,76 a	±	0,76	22,14 b	±	2,43	4,99 a	±	0,57
Coniferaldeído	34,94 a	±	4,85	71,50 b	±	1,65	35,66 a	±	4,90
Sinapaldeído	13,26 a	±	0,55	184,16 b	±	1,05	224,57 c	±	22,97
Ácido Elágico	71,48 a	±	14,46	373,58 b	±	220,51	251,12 ab	±	29,68
<b>TOTAIS</b>	<b>272,75</b>			<b>805,53</b>			<b>629,57</b>		

[ ] – concentração do composto em mg/100g de apara; D.P. – desvio padrão; n.d. – não detectado; a, b, c, d – letras diferentes, em cada linha, representam diferenças significativas a  $p < 0,05$ .



Tabela nº 8: Concentração (mg/100g de apara) dos compostos fenólicos em aparas, com tosta média, de carvalho Francês, carvalho Americano, carvalho Nacional do Gerês e castanheiro Nacional.

Composto	Intensidade da tosta											
	Carvalho Francês			Carvalho Americano			Carvalho Nacional			Castanheiro Nacional		
	[ ]	±	D.P.	[ ]	±	D.P.	[ ]	±	D.P.	[ ]	±	D.P.
Ácido gálico	39,56 a	±	5,43	18,19 a	±	0,57	258,82 b	±	55,11	410,28 c	±	21,63
5-OHMefurfural	6,13 ab	±	0,29	10,79 b	±	3,08	27,70 c	±	3,35	5,13 a	±	1,63
Furfural	4,16 ab	±	1,25	2,61 a	±	0,19	11,83 b	±	6,27	5,15 ab	±	1,03
Ácido vanílico	5,82 a	±	2,68	11,11 b	±	1,45	23,88 c	±	3,79	10,84 b	±	2,03
5-Mefurfural	1,91 a	±	0,24	1,79 a	±	0,28	3,70 a	±	0,97	4,93 b	±	1,19
Ácido Sirínico	17,04 b	±	0,87	15,04 ab	±	0,77	9,51 a	±	0,75	34,00 c	±	5,09
Vanilina	16,77 b	±	1,20	14,59 b	±	0,66	11,28 a	±	5,74	29,12 c	±	2,41
Seringaldeído	63,47 d	±	4,00	40,09 b	±	3,67	24,84 a	±	6,44	48,86 c	±	4,67
Ácido Ferúlico	15,65 b	±	1,78	1,74 a	±	0,07	22,79 c	±	3,52	4,00 a	±	1,02
Coniferaldeído	48,26 b	±	6,54	59,20 c	±	2,10	41,36 a	±	9,05	38,92 a	±	2,62
Sinapaldeído	106,39 b	±	13,88	136,10 b	±	6,02	48,71 a	±	16,54	234,19 c	±	14,41
Ácido Elágico	582,84 b	±	25,87	257,31 a	±	5,74	1156,06 c	±	214,07	600,33 b	±	27,84
<b>TOTAIS</b>	<b>907,99</b>			<b>568,58</b>			<b>1640,49</b>			<b>1425,75</b>		

[ ] – concentração do composto em mg/100g de apara; D.P. – desvio padrão; ; a, b, c, d – letras diferentes, em cada linha, representam diferenças significativas a  $p < 0,05$ .

## ANEXO II

RESUMO DO ARTIGO APRESENTADO NO 8º SIMPÓSIO DE VITINICULTURA DO ALENTEJO 2010

### **Utilização de aparas de madeira no envelhecimento de vinhos tintos: quantificação da composição fenólica de madeiras por HPLC**

**Raquel Garcia <sup>1</sup>, Margarida Vieira <sup>3</sup>, Maria João Cabrita <sup>1,2</sup>**

<sup>1</sup>Instituto de Ciências Agrárias e Ambientais Mediterrânicas (ICAAM), <sup>2</sup>Departamento de Fitotecnia, Universidade de Évora, Apartado 94, 7002-554 Évora, Portugal, <sup>3</sup>Aluna do mestrado de Viticultura e Enologia da Universidade de Évora. Email: raquelg@uevora.pt

A utilização de barricas de madeira no envelhecimento de vinhos constitui pratica corrente em enologia uma vez que possibilita um incremento na qualidade do produto final, conferindo-lhe propriedades físico-químicas e organolépticas diferenciadas [1]. Recentemente, o uso de aparas de madeira para fins enológicos tem vindo a ser explorado pois surge como uma alternativa menos dispendiosa, comparativamente ao uso de barricas, para além de promover o envelhecimento de forma mais célere. Nos últimos anos, têm surgido alguns estudos acerca desta temática contudo, até à data, os trabalhos desenvolvidos têm incidido fundamentalmente em madeira de carvalho americano e francês [2,3]. Dado que a aplicação de aparas de madeira para o envelhecimento de vinhos elimina a problemática associada ao uso de madeira própria para tanoaria torna-se pertinente o estudo da aplicabilidade de outras espécies de madeira, para além do carvalho, no estágio de vinhos.

Assim, este trabalho visa o estudo da composição fenólica de madeiras de castanheiro e carvalho (nacional, francês e americano) para a sua aplicação sob a forma de aparas ou dominós para fins enológicos. Com esse objectivo, o trabalho consistiu na optimização de um método de extracção dos compostos fenólicos presentes nos diferentes tipos de madeira em análise (PLE - pressurized liquid extraction), e a sua quantificação por HPLC-DAD.



**Wood chips in wine: quantification of phenolic composition of several wood species  
by HPLC**

**Raquel Garcia <sup>1,2</sup>, Margarida Vieira <sup>2</sup>, Maria João Cabrita <sup>1,2</sup>**

<sup>1</sup>Instituto de Ciências Agrárias e Ambientais Mediterrânicas (ICAAM), <sup>2</sup>Universidade de Évora, Apartado 94, 7002-554 Évora, Portugal; E-mail: raquelg@uevora.pt

**Keywords:** phenolic composition, wood chips

Wood barrels have been used in enology for many centuries and could be considered a traditional practice in quality wine-making areas. During maturation in wooden barrels, the wine undergoes physical and chemical changes related with oxidation reactions with the phenolic compounds of the wine and interaction between oxygen and wood components, allowing the extraction of certain wood compounds to the wine [1]. Therefore, the ageing of wines in barrels gives characteristic aromas and flavours to the wine which have a great impact on the characteristics and quality of the final product. The extraction of phenolic compounds from wood barrels depends mainly on the quantity of compounds that are potentially extractable, on the contact time between wine and wood as well as on the wine composition. The factors which affect the pool of wood extractives are the species and geographical origin of the wood, the seasoning of the staves, the toasting and age of the barrel [2]. The financial impact on the production cost of wine is enormous and is therefore important for barrels to be used as effectively as possible. Hence, the use of chips instead of barrels during the wine aging process could be a less expensive alternative. The aim of this work is the study of the phenolic composition of several wood species in the shape of chips for enological purposes and also the influence of toasting level in the quantity and quality of extractable substances from wood into wine. In this work will be described the application of a high performance liquid chromatography (HPLC-DAD) method for the simultaneous identification and quantification of phenolic acids, phenolic aldehydes and furanic derivatives in several wood species, namely French, American and Portuguese oak and Portuguese chestnut.

**References:**

- [1]- Ortega-Heras M., González-Huerta C., Herrera P., González-Sanjósé M.L., *Analytica Chimica Acta* 513 (2004) 341- 350.
- [2]- Cerdán T.G., Mozaz S.R., Azpilicueta C.A., *Food Research International* 35 (2002) 603-610.

